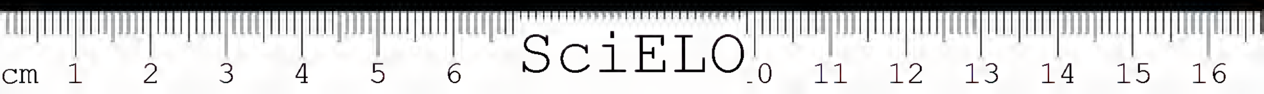



cm 1 2 3 4 5 6 7 SciELO 11 12 13 14 15 16 17


cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
11 12 13 14 15 16

MEMÓRIAS

DO

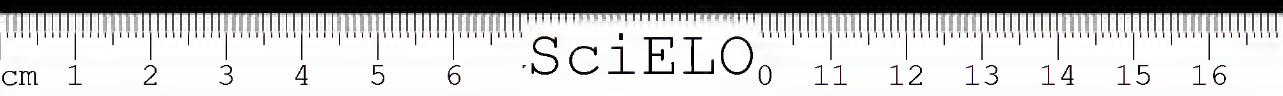
INSTITUTO DE BUTANTAN

1925

Tomo II - Fasciculo Unico



Endereço: SÃO PAULO (Brasil)
Caixa Postal 65



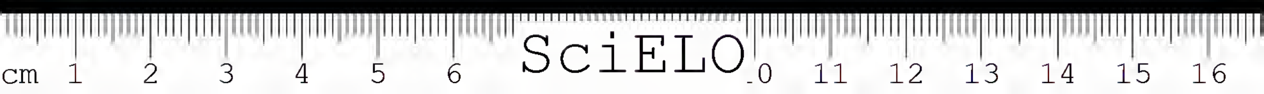

cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
10 11 12 13 14 15 16

SUMMARIO

Contribuição ao estudo do veneno das aranhas, pelos Drs. Vital Brazil e J. Vellard . . . . Pag. n.º 5
Um novo genero e duas especies novas de aranha do estado de S. Paulo, pelo Dr. J. Vellard . . . . » » 79
Immunisação anti-tetanica pelo methodo toxoide-toxina, pelo Dr. José Lemos Monteiro . . . . » » 85
As differentes phases da autolysis do « Bacillus anthracis », pelo Dr. J. Lemos Monteiro . . . . » » 95
Immunização *per os* contra o B. de Shiga. Contribuição ao estudo da natureza da immunidade, pelo Dr. Eduardo Vaz . . . » » 99

SOMMAIRE

Contribution à l'étude du venin des araignées, par les Drs. Vital Brazil et J. Vellard . . . . Pag. n.º 5
Un noveau genre e deux espèces nouvelles d'araignées de l'état de S. Paulo, par le Dr. J. Vellard . . . . » » 79
Immunisation anti-tétanique par la méthode toxoide-toxine, par le Dr. J. Lemos Monteiro . . . . » » 85
Les différentes phases de l'autolyse du « B. anthracis », par le Dr. J. Lemos Monteiro . . . . » » 95
Immunisation *per os* contre le bacille de Shiga. Contribution à l'étude du mécanisme de l'immunité, par le Dr. Eduardo Vaz . . » » 99


SciELO

CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DO VENENO DAS ARANHAS

PELOS DOUTORES

VITAL BRAZIL — DIRECTOR

J. VELLARD — ASSISTENTE

(Com as estampas 1-14)

INTRODUCÇÃO

A existencia de accidentes, de uma certa gravidade, no homem e nos animaes superiores, foi muitas vezes posta em duvida por naturalistas e por medicos; muitos escriptores da antiguidade já falam a respeito, e, em nossos dias, numerosas observações clinicas e experimentaes foram publicadas sobre esse assumpto; alguns auctores, porem, especialmente os européos, recusam ainda admittir a possibilidade dos mesmos.

As crenças populares são, ao contrario, muito affirmativas, e sem admittir todas as fantasias do «*tarantulismo*», é interessante notar a uniformidade das mesmas em regiões completamente distinctas; assim, as especies de tamanho medio ou assaz pequeno, formando o genero *Latrodectus*, são quasi universalmente temidas sob differentes nomes: «*lucacha*» no Perú, «*guina*» ou «*pallu*» no Chile, «*araña del lino*» em certos pontos da Argentina, «*malmignathe*» no sul da Europa, «*lobo preto*», «*karakurt*» ou «*tchim*» na Russia oriental e meridional, «*menavodi*» em Madagascar, «*katipo*» em Nova Zeelandia, «*cul-rouge*» e «*vinte quatro horas*» nas Antilhas...

Os indios da California [1] assim como os *boschemans* — do sul da Africa [2] empregam macerações de aranhas no preparo do veneno de suas flechas.

Essas opiniões contradictorias, e alguns accidentes graves observados em diversos pontos do Brasil, nos levaram a encarar a questão experimentalmente. No presente trabalho, depois d'uma rapida exposição dos estudos já existentes, daremos o resultado das primeiras pesquizas que tivemos de fazer, para nos orientar sobre o assumpto, estabelecendo a toxicidade dos differentes grupos de aranhas indigenas.

HISTORICO

a) Accidentes provocados por aranhas

Dentre os antigos, já Aristoteles assignala duas especies mais venenosas do que as outras e descreve approximadamente os accidentes que ellas provocam. Plinio refere-se em diversas passagens, á «*Phalangium*» e á «*Tarantula*», fazendo notar ser esta mais perigosa no verão e no sul d'Italia.

Na idade média grassou, em diversas regiões da Europa, sobretudo no sul da Italia, uma curiosa molestia, caracterisada por intensa agitação nervosa; os doentes eram, a maior parte das vezes, accommettidos de crises convulsivas de riso ou de choro; alguns dansavam com frenesi, outros experimentavam um somno invencivel ou tremores generalisados. Notava-se quasi sempre, vomitos, e, algumas vezes, perturbações cardiacas ou visuaes; no fim da crise os doentes adormeciam profundamente, de nada se recordando ao despertar. O povo attribuia esses accidentes á picadas d'uma aranha, uma lycosa, chamada communmente «*tarantula*» devido á frequencia d'essa molestia, o «*tarantulismo*», perto de Tarento. Assumindo, esses accidentes, algumas vezes um caracter epidemico, foram explicados de varios modos e muitas vezes attribuidos á hysteria.

Entretanto, certos symptomas observados actualmente nos animaes de laboratorio, ou nas pessoas picadas por aranhas nos levam a crêr que talvez uma especie de aranha, provavelmente uma *Latrodectus*, poderia, em certos casos, ser responsavel, pelo menos em parte, por essas perturbações nervosas.

Segundo Hecker, citado por Ozanam, duas coisas bem distinctas foram confundidas n'essas epidemias de tarentismo. O tarentismo accidental, devido á picada de uma aranha que os auctores d'aquella epocha chamavam «*tarantula da Pulha*» e o tarentismo nervoso devido provavelmente a uma molestia, que, como tantas outras, grassou sob a forma epidemica e que desappareceu, ficando, provavelmente encantonada no seu berço primitivo, que, segundo esses auctores, é a provincia do Tigre, na Abyssinia.

Em 1601 Ulysses Aldrovandi faz uma descripção muito completa d'essas epidemias de tarantulismo. Em 1794, Luigi Toti ([3]) cita numerosas observações de accidentes em algumas experiencias que realisou, em Volterra, com o veneno de *Latrodectus 13 guttatus*. Em 1787 e 1788 esse auctor teve occasião de observar o apparecimento de grande quantidade d'esses arachnideos, provocando numerosos accidentes e desapparecendo quasi completamente depois de rigoroso inverno, em 1789. Os symptomas observados foram analogos aos posteriormente registrados para os accidentes da Lactrodectus. Estes symptomas são: tremor, calefrio, retenção de urina, dor intensa, delirio, convulsões, perturbações intestinaes, podendo ter-

minar pela morte, se o doente não melhora depois de transpiração profusa. A convalescença é demorada. Muitos doentes apresentaram agitação convulsiva, com paralysia dos membros inferiores, syndroma esse denominado *scélotyrbe*, pelos antigos auctores italianos.

Foi, mui provavelmente, esse conjuncto symptomatico e a relativa frequencia de accidentes devidos a Latrodectus, observados n'aquella epocha, tanto no sul da Italia, como em outras regiões da Europa, que determinaram a confusão entre os casos de araneismo ou tarentismo accidental e o tarentismo nervoso.

Marmochi [4], italiano tambem, descreve, em 1800, cerca de 30 casos graves *Latrodectus 13-guttatus* dos quaes nenhum mortal. O quadro clinico, por elle traçado, approxima-se muito do observado actualmente nos accidentes provocados por outras latrodectus, *L. mactans* ou *L. erebus*, notando-se já perturbações, lembrando a chorêa semi-paralytica, de accordo com a observação do Dr. Ellis, no caso Baerg, em 1923.

O dr. Graells [4a], de Barcelona, nos Annaes da Sociedade de Entomologia de France, de 1834, assignala a apparição perto de Tarragona, no anno de 1830, de uma grande quantidade de aranhas, provocando numerosos accidentes, e alguns casos mortaes. Em 1833 esse mesmo auctor descreve uma nova apparição d'essas aranhas perto de Barcelona; uma commissão foi nomeada pela Academia Real de Medicina de Barcelona para estudar esses factos, a qual classificou essa especie como *Latrodectus 13 guttatus*.

Cauro, em 1833, descreve accidentes determinados na Corsega, por essa especie de aranhas, registrando que os phenomenos observados eram analogos, porem, menos graves do que os notados no envenenamento pela vibora.

Segundo Olivier [5], um velho de 60 annos teria morrido nas ilhas de Hyeres, de gangrena consecutiva a picada de aranha. Hulse [6], em 1839, publicou o caso muito interessante d'um homem picado no penis, no assento de uma latrina (modo de picada bastante frequente) por uma grande caranguejeira, tendo apresentado durante 24 horas fortes dôres em todo o tronco, acompanhadas de suffocações, de vomitos, de congestão da face, tendo sarado finalmente o doente.

Em 1856 Ozanam [7] publicou uma observação de Jahr relativa á picada d'*Epeira diademata*, acompanhada de dôres articulares, abatimento geral, dôres de cabeça e perturbações intestinaes com caracteres de intermittencia e periodicidade.

Em 1852, no Chile, Miguel publicou os primeiros accidentes attribuidos ao *Latrodectus mactans*, accidentes, posteriormente, tantas vezes observados, n'aquelle paiz. Tres annos mais tarde, no bolletim de Moscou, Motschulsky e Becker [8], estudando uma outra especie do mesmo genero, o *Latrodectus erebus* da Russia meridional, lhe attribuiam a morte de 70.000 carneiros, durante os annos de 1838-1839, entre os rebanhos dos nomades d'essa região.

Em 1870 Schtschensnowitsch [9], retomando o mesmo assumpto, refere o seguinte numero de accidentes, devido a este latrodectus — o Karakurt ou *lobo preto* dos Kalmuks: durante o verão de 1869, n'uma pequena steppe, ao sul da provincia de Samará, entre o Ural

e o Volga, essa aranha picou 48 pessoas, das quaes 2 vieram a fallecer, 173 camelos (57 mortos), 218 cavallos (36 mortos) e 116 carneiros (14 mortos); em seguida descreve, d'um modo muito completo, os symptomas no homem, symptomas muito semelhantes aos observados na Argentina e no Chile com o *Latrodectus mactans*: nenhuma reacção local, dôr forte, irradiante, profundo abatimento, palpitações, caimbras e algumas vezes convulsões tetanicas, hypothermia, perturbações cardiacas; a morte pode sobrevir no segundo ou terceiro dia; se isso não acontece os phenomenos melhoram no quarto ou quinto dia, mas a convalescença é muito longa, de duas a tres semanas á diversos mezes. Em 1869, Frantzius (10) assignala, na America Central, diversos casos d'ulceras e de gangrena, devido á araña *pica-cavallo*, una caranguejeira que fére no pé, e algumas vezes mata os grandes animaes; existem accidentes no homem e são muito dolorosos. Desde então tornam-se frequentes as observações, sobretudo na America do Sul. Holmberg (11), na Argentina, cita uma picada de *Segestria perfida* n'uma creança, provocando febre, gangrena, e uma cicatriz indelevel; o mesmo auctor attribue diversos casos de morte por aranhas registrados annualmente pela repartição de estatistica á *Lycosa pampeana*.

A esta especie deve-se referir, mui provavelmente, um accidente relatado por Greco e occorrido na pessoa de um empregado do Museo de Historia Natural de Buenos Aires.

Weyemberg (12) em 1876, observa em Cordoba um caso de morte pela *Segestria perfida*. Na mesma épocha Dieu (13) presenciou na Europa diversos accidentes locaes acompanhados de febre, os quaes attribue á mesma especie. Grube (14), picado por uma (*Chiracanthium punctatorium*) conservou, durante duas semanas, una placa d'anesthesia local. Dax (15), depois Guibert (16) observaram, em França, em consequencia de picadas pelo (*Latrodectus 13 guttatus*), perturbações analogas, musculares, renaes e intestinaes, mas muito menos intensas do que as provocadas pelas outras especies do mesmo genero.

Cremer (17), n'um trabalho que, infelizmente não nos foi possivel consultar, cita o caso de 4 brasileiros da mesma familia, que morreram successivamente, com um dia de intervallo, tendo o signal de duas picadas superficiaes: minuciosa pesquiza, feita na casa trouxe a descoberta de uma pequena aranha vagabunda, que foi morta; desde então nenhum accidente se reproduzio.

Segundo o dr. Sacc, de Cochambamba (Bolivia), citado por E. Simon (18), algumas especies de salticidae, denominadas por este ultimo auctor como *Dendryphantes noxiosus* e *D. Sacci*, são muito temidas, n'esta região, sob o nome de mico-mico; sua picada provoca uma dôr muito forte, seguida d'inflammação; nos casos graves, nota-se sempre hematuria e a morte pode sobrevir dentro de algumas horas; Sacc preconiza como tratamento o ammoniaco e as cauterizações igneas. Bobilier, depois Puga Borne (19), retomaram esses estudos, no Chile; em 1892 este ultimo auctor attribue ao *Latrodectus mactans* a morte de 4 cavallos, 2 ovelhas, coelhos, cobaios e outros animaes, citando um caso mortal no homem, e relatando diversos accidentes devidos á *Epeira audax*.

Na Argentina entretanto, é que, durante os ultimos 30 annos, esses factos foram melhor estudados. Em 1894 José Penna [20] relatava 2 casos mortaes, sendo notavel o d'um jovem italiano que picado, no braço, por uma aranha, foi enviado ao hospital de isolamento como suspeito de febre amarella: ao lado de intensas perturbações geraes, febre, ictericia, hemoglobinuria, elle tinha, no lugar da picada, duas enormes phlyctenas que chegaram a gangrena; a morte se deu no quinto dia. Delio Aguilar [21], alem de suas observações pessoaes, lembra as de Brandzen, de Balbastro, d'Aranguren, de Toribio Ricardo, Lacoste, Jonas Larguia e Benedit, (cerca de 12 casos entre os quaes 6 mortaes); elle classifica, segundo sua intensidade, os accidentes que poude observar, com especies não determinadas, em fracos, médios (inflammação local, phlyctena, febre, apresentando melhoras dentro de 24 horas), e graves, com necrose branca, diffusa, do membro picado, vomitos, temperatura de mais de 39°, enterorhagia, albuminuria, pulso fraco, muitas vezes congestão pulmonar; depois 3 ou 4 semanas eliminação d'uma grande eschara. Uma creança picada no hypogastrio morreu em 7 dias. N'um trabalho posterior, elle relata 15 outras observações, dentre as quaes 2 casos mortaes causados pela *Aranea audax*. Argerich [22], em 1908, descreveu um accidente devido á *Segestria perfida*: o paciente apresentava, alem de fortes dores locaes e vomitos, ictericia grave, accentuado estado de demencia, pulso filiforme e congestão pulmonar, não melhorando sinão para o nono dia; formou-se, então, grande eschara que se eliminou pouco depois. No anno seguinte, Burghi [23] refere um caso semelhante de um soldado picado por uma *Polybetes pythagorica* e, em 1910, Mazza e Argerich [24] o d'um jovem hespanhol picado por uma *Segestria perfidia*. Ainda em 1910 Americo del Pino [25] publica 3 accidentes, dos quaes um mortal, attribuido á *Aranea audax*. Cerutti [26], em duas publicações, estudou a symptomatologia dos accidentes provocados pela *Latrodectus mactans*, das quaes elle observou mais de 100 casos em 10 annos, em Pergamino, provincia de Buenos Aires: nenhuma reacção local alem dos 2 pontos vermelhos deixados pelos ferrões da aranha; alguns minutos depois do accidente começam violentas dores generalizadas, uma sensação de fadiga, de oppressão precardiaca, angustia extrema acompanhada de tremores generalizados e movimentos continuos; ha hypothermia, dyspnéa (45 a 50 movimentos respiratorios por minuto), pulso regular, com 60 pulsações; os reflexos são exagerados, as urinas defficientes; não existem vomitos; depois d'um tempo variavel, de 12 a 24 horas, sobrevem transpiração abundante e todos os symptomas retrocedem em 3 ou 4 dias; em todos os doentes a evolução foi favoravel. Nos casos frequentes de picadas pelo mesmo latrodectus, no Chile, Gusman [27] observou, alem disso, perturbações mentaes, hallucinações profundas, alterações das secreções e da innervação, apparecendo, de alguns minutos á 3 horas depois do accidente; os tremores degeneram algumas vezes em convulsões locaes; depois, essas perturbações vão melhorando, mas durante a convalescença que é longa, apparecem muitas vezes erupções e desquammações; nos casos mortaes que Guzman não observou pessoalmente, a morte sobreveio pela aggravação dos sympto-

mas precedentes, seguidos de paralysia e de forte hypothermia (raramente de hyperthermia), algumas vezes tambem pelo enfraquecimento gradual do organismo. Este quadro clinico é perfeitamente comparavel ao traçado por Marmochi e pelos auctores russos nos seus estudos sobre os *Latrodectus 13 guttatus* e *erebus*.

Guzman attribue igualmente a mancha gangrenosa, accidente frequente no Chile, á picada de especies diversas, *Dysdera insidiatrix* ou *Sicarius rufipes*, trazendo, sobre este assumpto, suas observações pessoaes e as de Prado.

Emfim, B. Sommer e N. Grecco [29] publicaram dois estudos clinicos, muitos completos, sobre accidentes provocados pelas aranhas, accidentes para os quaes propuzeram, no Congresso Internacional americano de Buenos Aires, (1910), o nome d'araneidismo ou araneismo mais apropriados do que o d'arachnoidismo, proposto em 1907 por Mazza e Saloviez [29]. Estes dois ultimos auctores haviam distinguido 4 typos d'araneismo; o araneismo neurotoxico, o araneismo icterohemolytico, o araneismo necrotico e o araneismo eruptivo; Sommer e Grecco reduziram os mesmos a tres, o araneismo cutaneo-ictero-hemolytico, o araneismo exanthematico e o araneismo-neuro-myopathico; emfim, em 1916, Houssay [30] conserva somente dois, o araneismo nervoso e o araneismo gangrenoso. Houssay descreve igualmente um certo numero de picadas d'*Aranea audax* com edema consideravel, placas de gangrena, delirio, ictericia e algumas vezes erythema scarlatiforme polymorpho, tudo evoluindo de 7 a 25 dias.

No Perú existe um trabalho d'Alfredo y Leon (1891) e dois estudos de Escomel [31], um sobre o *Glyptocranium gastheracanthoides*, pequena aranha muito commum sobretudo na base das parreiras, e que causa frequentes accidentes caracterizados localmente por um edema enorme, se transformando em phlegmão diffuso, com phlytenas, se necrosando e eliminando grandes placas cutaneas; n'um caso de Bedregal Delgado, que elle cita, observou uma menina picada no pescoço que morreu no nono dia com grande esphacelo da pelle do pescoço; nos casos mortaes, que são raros, a morte sobrevem no meio de convulsões precedidas de abatimento profundo, com anuria e pulso incontavel; no segundo estudo, dedicado ao *Latrodectus mactans*, os symptomas são diversos dos observados em outras regiões, pela presença constante d'um edema consideravel; estes accidentes são frequentes e de ordinario, attribuidos á erysipela ou á picada d'algum escorpião ou de algum sauriano inoffensivo.

Na America do Norte, Riley [32] fornecia, em 1881, uma contribuição á litteratura das picadas mortaes de aranhas; em 1915 Kellog [33], relata 2 casos serios observados pelo dr. Koleman de Los Altos: no primeiro caso trata-se d'um homem picado no penis por *Latrodectus mactans*; dentro de 10 minutos appareceu uma dor forte, contracções clonicas dos musculos da perna e da parede abdominal; o orgão ferido tornou-se purpura, muito augmentado de volume, os batimentos cardiacos muito moderados, respiração penosa, a face congestionada e as pupilas dilatadas; no dia seguinte era sensivel a melhora, os accidentes locaes e a dor tinham desapparecido porem, um leve rash existia no corpo; 3 dias depois as pulsações

cardiacas não eram ainda senão de 64 por minuto. Mais recentemente Baerg ([34]), persuadido da inocuidade do veneno de aranha, em consequencia de experiencias muito pouco precisas, experimentou sobre elle proprio, o effeito da picada de uma caranguejeira, a *Dugesiella Hentzi*, e a do *Latrodectus mactans;* provavelmente, devido á technica defeituosa empregada, não obteve quasi nenhum resultado com a primeira especie, e a dor, muito leve, desappareceu em menos de 2 horas: elle conclue, d'esta tentativa e de algumas outras experiencias feitas segundo a mesma technica, sobre animaes de laboratorio, haver falta de actividade do veneno d'esta especie, conclusão pouco segura sendo dada a possibilidade da aranha haver picado, sem deixar correr o veneno. Resultados muito fracos, obtidos mais tarde em ratos, com o *Latrodectus mactans*, decidiram-n'o ainda a experimentar sobre si mesmo, esse veneno. Essa observação é muito importante, porque demonstra d'um modo irrefutavel a gravidade de taes accidentes no homem, e a necessidade de ser muito reservado ao examinar as conclusões de uma experiencia por picada directa: teve algumas difficuldades para se fazer picar, tendo occasião de notar que as aranhas se tornavam mais aggressivas dois dias depois de se haver alimentado; foi em seguida picado no dedo minimo da mão esquerda: a dor foi viva, porem, passageira; uma hora depois o logar do ferimento estava vermelho e coberto de gottas de suor; na segunda hora a dor, voltando muito forte, se estendia a todo o braço, e, apezar da applicação local de permaganato e d'ammoniaco elle entrava no hospital 4 horas depois de haver principiado a experiencia; durante dois dias, a dor continuou com violencia, não somente no membro ferido, mas generalizada, occupando, sobretudo, a região lombar, acompanhada de suores profusos, d'um pouco de delirio, e de forte constipação: a applicação local de permaganato foi pouco efficaz, porem banhos quentes repetidos, geraes e locaes, acalmaram um pouco a dor; nas proximidades do terceiro dia esta diminuio, dando lugar a um entorpecimento e, no quarto, o doente poude deixar o hospital; nos dias seguintes sentio ainda uma dor local e a temperatura que, durante a phase aguda, se tinha mantido nas proximidades de 99°9F, oscillou durante 2 semanas entre 97°6 e 99°6; o medico assistente, dr. Ellis, notou, alem d'isso, o aspecto congestionado da face, viva phagocytose local, perturbações vaso-motores e caimbras intermittentes, lembrando a claudicação intermittente. A proposito desta observação, Baerg lembra o caso muito grave de uma pessoa que foi picada no scroto, provavelmente por uma latrodectus.

Na Europa, Blanchard ([35]), Walbum ([36]) e Mme. Physalix ([37]) citam na litteratura, um grande numero de accidentes, sem relatar nenhum caso pessoal.

No Brasil esses accidentes não são raros, sendo, entretanto, rarissimos os casos de perfeita identificação da aranha determinadora do accidente. Consignamos aqui algumas das mais interessantes observações de araneismo, entre nós, algumas colhidas no proprio Instituto, outras registradas por informações de collegas.

a) Um de nós (o dr. Vital Brazil) teve occasião de observar dois casos de accidentes por aranha em 1917, em Butantan. Nos

dois casos o accidente occorreu quando as victimas dormiam. A picada, em um d'elles, foi ao nivel da união do terço medio ao terço inferior da parte interna do braço direito; no outro, foi na parte anterior do terço inferior do braço esquerdo, quasi ao nivel da dobra articular. O primeiro caso, muito mais serio que o segundo, foi acompanhado de fortes dores e esphacelo dos tecidos dermico e subcutaneo, n'uma extensão approximada de 40 centimetros quadrados, conforme se vê da estampa n.º 8 photographada da peça de cêra modelada do paciente e depositada no Museo do Instituto. No segundo caso, alem das dores que não foram tão fortes, nem tão duradouras, como as do primeiro, observou-se forte echymose no ponto da picada e na região circumvisinha, conforme se verifica da estampa n.º 8 photographada da peça de cera existente no Museo do Instituto.

Nos dois casos, alem das dores, nenhum outro symptoma geral foi observado. O tratamento paliativo e symptomatico consistio na applicação de compressas d'agua phenicada, que proporcionaram allivio aos pacientes. O restabelecimento foi demorado no primeiro caso e rapido no segundo.

b) O Professor R. Kraus, durante o periodo de sua administração do Instituto de Butantan, teve occasião de observar dois casos de araneismo.

Por unico documento d'essas observações encontramos no Instituto estampas coloridas, que representam as lesões locaes de taes accidentes. O Dr. Rocha Botelho que acompanhou a observação destes accidentes poude reconstituir a historia de um d'elles. Do outro não foi possivel fazer o mesmo, porque o paciente não tendo deixado o endereço não poude ser encontrado (Estampa n.º 10).

Observação do Dr. Rocha Botelho:

Da. Maria Trettin, com 10 annos de idade, casada, natural da Allemanha, residente á rua Itapeberaba n.º 17, na Freguezia do O', nesta Capital. Foi mordida no terço medio da face interna do braço esquerdo, a 24 de Novembro de 1922, em sua residencia, por uma aranha parda e de tamanho mediano. No momento da mordida, o que se deu ás 3 horas da madrugada, quando procurava vestir um casaco que se achava no chão, nada sentiu a não ser a picada, adormecendo em seguida. Algumas horas depois, pela manhã, começou a sentir ligeiras dores que foram augmentando progressivamente e como si fôra uma queimadura. Dois dias depois da picada appareceu n'este Instituto de Butantan, á procura de recursos. Quando aqui chegou, apresentava o braço grandemente edemaciado, invadindo este edema toda a parte inferior do ante-braço, indo pouco alem da região do cotovello. No ponto da picada, via-se uma coloração violacea, em fórma de X, mais ou menos de 8 centimetros de extensão, em cujo centro estava o ponto da picada, conforme a estampa n.º 9. Na 2.ª figura da estampa n.º 9 nota-se o tecido fortemente echymosado, sem, no entretanto, a primitiva inflammação, com inicio de necrose, cuja placa cahira e que havia invadido toda a região, corres-

pondente, principalmente, ao X da primeira figura; nota-se na 3.ª figura da estampa n.º 9 a perda da pelle, tecido cellular sub-cutaneo, aponevrose e mesmo parte da superficie muscular, ficando como se diz vulgarmente, em carne viva. Na quarta figura da estampa n.º 9 que representa a região alguns mezes depois, vê-se a cicatrização em forma linear. Apresenta actualmente, 2 annos após o accidente inicial, uma grande cicatriz com distensão do tecido, conforme a 5.ª figura da estampa n.º 9. Consistiu a therapeutica, em uma injecção de serum anti-escorpionico, no primeiro dia que aqui viéra, em applicações locaes anti-scepticas e compressas de agua fria.

O Dr. Novaes refere dois casos de araneismo, occorridos em Conceição de Itanhaem. O primeiro chegara ao seu conhecimento por informações de pessoas da familia do paciente, e dera-se cerca de oito annos passados. Tratava-se de um homem, de cerca de 40 annos de idade, que sentando-se no chão, nas proximidades da praia, fôra picado no pé, por uma aranha escura de tamanho medio. Apresentaram-se logo phenomenos excessivamente dolorosos e contracturas generalizadas, vindo a fallecer dentro de seis horas approximadamente. Não fôra assistido por medico, por não haver em Itanhaem, por essa epocha, clinico algum. O outro caso deu-se a pouco tempo, tratando-se de um individuo, forte, adulto e que fôra picado no pé atravez do ilhoz do sapato, quando trabalhava no quintal. Foi um caso leve, provavelmente pela protecção do sapato. Apresentou, entretanto, dor intensa local, acompanhada de mal estar geral, dor precordial, caimbras nos dedos das mãos. Restabeleceu-se dentro de dois dias, depois de suores profusos. Uma aranha remettida pelo paciente, como identica á que havia determinado o accidente, fôra identificada, pelo Dr. J. Vellard a *Ctenus ferus.*

O Dr. José Luiz Guimarães, medico da Assistencia Publica de S. Paulo, tem tido occasião de soccorrer varios casos de araneismo, fazendo interessantes observações, que levou ultimamente ao conhecimento da Sociedade de Medicina e Cirurgia de S. Paulo. O seu primeiro caso, occorrido em 1903 e publicado no n. 1 da Gazeta Clinica de S. Paulo, pag. 17, foi o de um menino de 7 annos de idade, que brincando junto a um poço, fôra picado no pavilhão da orelha esquerda, por uma pequena aranha, pouco maior do que uma abelha. Depois de uma symptomatologia de extrema gravidade succumbe 17 horas após o accidente, de nada tendo valido os recursos medicos postos em uso, inclusive a injecção de 20 cc. de sôro anti-ophidico.

Os outros casos observados por esse nosso distincto collega, e que nos foram, por elle, referidos verbalmente, referem-se todos a accidentes de effeitos locaes, acompanhados de esphacelos mais ou menos extensos, observados todos n'esta Capital e devidos mui provavelmente á picada da *Lycosa raptoria.*

De um d'elles, por extrema gentileza do nosso confrade, damos uma figura, n.º 11, que mostra a extensão e gravidade que pode produzir a picada d'esta especie muito frequente entre nós.

Registramos ainda dois casos de accidentes por picada de aranha, observados neste anno no Instituto de Butantan. Um delles occorrido em pessoa residente no Instituto, mulher de um empre-

gado, é particularmente instructivo, por nos dar a comprehender a razão porque, em muitos casos, os accidentes são benignos a despeito da aranha determinadora do accidente ser perigosa. Foi o caso que a mulher de um empregado, pela manhã ao levantar-se do leito, procurando calçar os chinellos, fôra picada ligeiramente na extremidade do dedo grande do pé direito, por uma aranha que se achava occulta em um dos pés do calçado. O marido, que se achava ao lado da paciente, poude capturar a aranha que foi determinada como um bello exemplar de *Ctenus nigriventer*, observando o mesmo que o arachinidio deixara, sobre a pelle do ponto offendido, uma gotta de um liquido constituido certamente pela maior parte do veneno que não fôra inoculado. A paciente apresentou immediatamente dores muito intensas, vindo submetter-se ao nosso exame. Verificamos, como corpo de delicto do accidente, apenas ligeira arranhadura produzida por um dos ferrões. A espessura da pelle do dedo offendido, explicava o facto de não haverem penetrado os dois ferrões, a despeito da força com que picara a aranha, o que ficou demonstrado pelo escoamento do veneno na parte exterior da pelle. A paciente depois de algumas horas de intenso soffrimento, curou-se sem outro qualquer symptoma desagradavel.

O outro caso observado em Butantan, e de que trataremos minuciosamente, mais adiante, foi o de um homem picado no pescoço por uma aranha, provavelmente uma Lycosa. Alem dos phenomenos dolorosos e do edema local, observados no começo do accidente, nenhum outro foi notado, pois o paciente restabeleceu-se promptamente graças à acção do *soro anti-lycosico* que já haviamos conseguido por occasião d'este accidente. A estes casos devemos ainda accrescentar o do accidente de que um de nós (o Dr. J. Vellard) foi victima, quando caçava nas mattas proximas ao Instituto de Niteroi, aranhas para os estudos que emprehendiamos. Ao procurar apanhar, com uma pinça, um *Ctenus ferus*, especie muito aggressiva e extremamente agil, fôra picado no pollegar da mão esquerda. Sentio immediatamente dores muito vivas que continuaram intensas por muitas horas e attenuadas por alguns dias. Não houve reacção local. Alem dos phenomenos dolorosos, foram notados: frequencia e irregularidade do pulso, mal estar geral, trepidação muscular e contractura nos musculos do dedo offendido, suores profusos, etc.

Só ao fim de quatro dias julgou-se o paciente apto a retomar as suas occupações habituaes.

b) Estudos experimentaes

As pesquizas experimentaes sobre o araneismo são muito mais raras e menos completas do que os estudos clinicos; como teremos occasião de expor mais adiante, são ellas delicadas, sujeitas a numerosas causas de erro, apresentando resultados muitas vezes contradictorios, e difficeis de serem devidamente apurados.

Já em 1689 Baglivi [illegible] fez picar, por uma *tarantula*, no labio, um coelho, que morreu paralytico em 5 dias, com um edema volumoso e uma eschara local. Em 1757, Clerck [32], na Suecia, depois,

um pouco mais tarde (1778), de Geer ([10]), em consequencia de varias experiencias n'elles proprios e sobre insectos, concluiam que as aranhas, pelo menos no norte da Europa, são inoffensivas para o homem.

Em 1794 Luigi Totti fez picar, durante tres dias consecutivos, uma gallinha por um *Latrodectus;* a cada picada seguiram-se convulsões, houve um grande edema, o animal não podia estar de pé, e levou tres semanas a se restabelecer; um pombo picado na base do bico, morreu em oito dias, paralytico; pintinhos morreram dentro de algumas horas; um cão picado no focinho, manifestou forte dôr, grande abatimento e se restabeleceu; diversos animaes, cães, gatos, coelhos, recebendo no seu alimento, latrodectus esmigalhados, não mostraram nenhum signal de intoxicação; emfim, Totti, se deixando picar por 4 *Latrodectus* muito novas, não sentiu senão uma dôr leve, seguida de apparição de pequenas papulas.

A. Raikem ([11]), em 1827, não obtem, primeiramente, nenhum resultado fazendo picar um grande coelho por uma femea de *Latrodectus;* um segundo coelho picado por uma femea previamente excitada se enfraqueceu pouco a pouco e morreu em cinco ou seis dias; um terceiro coelho, picado por 4 femeas e um macho da mesma especie não apresenta senão fracos symptomas, immediatos, porem, ficando paralytico no dia seguinte, morre na noite immediata; sobre dois pombos, um morreu em 24 horas e o outro se restabeleceu a muito custo; um cão novo teve somente tremores generalisados.

Walckenaer (1830), Milne Edward e A. Dugès ([12]) julgavam, ao contrario, inoffensivas as aranhas; Dugès faz, apenas, algumas reservas sobre a épocha, pouco favoravel, na qual elle fez suas experiencias (temperatura fresca, no fim do verão) e nota que sempre as aranhas (*epeira, segestria, latrodectus*) apertavam a pelle sem que seus ferrões atravessassem a epiderme. Dufour, Maggridge, Lucas e Van Hasselt tendo sido igualmente picados, por diversas especies, não as acreditam perigosas; Blackwall ([13]) chega mesmo a concluir que os insectos dos quaes ellas se alimentam são mortos, não pela acção do veneno, mas por simples traumatismo, baseando-se sobre um certo numero d'experiencias, em que as moscas picadas por aranhas não morriam mais rapidamente que as testemunhas, picadas com um alfinete. Bertkau ([14]), em 1870, retomando as experiencias de Blackwall, chega à conclusão opposta, mas observa variações assaz numerosas da actividade de veneno, sob diversas influencias, menos activo, por exemplo, no tempo frio e humido; alem d'isso, emquanto que Blackwall não fôra incommodado pela picada da *Aranea diademata* (ao contrario das observações de Jahr) Bertkau, assim como Forell, ([15]) soffreu muito com uma picada de *Chiracanthium subflavum*, necessitando perto de 2 semanas para se restabelecer.

Pollock ([16]) relata que a *Lycosa ingens*, da Madeira, ataca e mata lagartos bastante grandes e, segundo Doleschall ([17]) a grande *Selenoscomia javanensis* mata o padda (pardal conirostro, senegalez) em 30 segundos, com convulsões tetanicas.

Fabre ([18]) acha o veneno das aranhas, em geral, muito fraco para prejudicar o homem; não obstante, um pardal nôvo, picado na pata

por uma *Lycosa narbonensis* morreu paralytico, em 24 horas, com algumas convulsões; uma toupeira succumbiu em 40 horas. Eugenio Simon [49], sem se apoiar em experiencia alguma, crê as aranhas inoffensivas e acha «*mais simples*» explicar as observações de Motschulsky por uma epizootia, dando, alem d'isto, pouco valor aos diversos trabalhos publicados sobre o araneismo; as especies do genero *Chiracanthium* lhe pareciam, entretanto, «mais activas e capazes de determinar accidentes, até mesmo no homem.»

Não é, senão, no começo d'este seculo, que os estudos experimentaes se tornam mais abundantes e mais precisos. Kobert [50] foi o primeiro a emprehender pesquizas systematicas sobre esse assumpto, mas acreditando achar no corpo inteiro das aranhas, os principios activos do veneno, em maior quantidade, trabalhou com macerações totaes de aranhas, enveredando assim, n'uma via, completamente differente; só mais tarde elle emitte algumas duvidas sobre a identidade das duas toxinas.

Walbum, em 1914, publicou uma longa memoria sobre o veneno das glandulas e as toxinas obtidas por maceração total da *Aranea diademata*: nas suas experiencias realizadas fazendo picar aranhas vivas, elle verificou que esta especie é muito activa em relação ás moscas, que morrem pela acção do veneno; que este ultimo se exgotta, após cada picada, mas se refaz rapidamente, e que as primeiras gottas são as mais toxicas; mas a injecção intravenosa, no coelho, de 40 milligrammas d'esse veneno, diluido em soro physiologico, e a de 60 milligrammas intraperitoneal, no camondongo não determinam nenhum symptoma d'intoxicação; conclue que as especies do norte da Europa não são nocivas ao homem e aos animaes de sangue quente; que as especies perigosas existem somente nos tropicos, e que não ha relação entre o tamanho da aranha e a actividade do veneno (para especies differentes) como pretendia Linstow (1894). Levy [51], em França: trabalhando com extractos de glandulas maceradas em agua distillada ou soro physiologico, verificou que a injecção intravenosa de 12 glandulas d'*Epeira* ou de *Tegenaria* não determinava nenhum symptoma no coelho; 6 glandulas de *Tegenaria atrica* injectadas debaixo da pelle d'um rato, não trazia nenhuma reacção local, do mesmo modo que 8 glandulas de *Tegenaria parictina* na rã; fez alem disso, algumas outras experiencias pouco concludentes com a *Epeira cornuta*, *Zilla X-notata* e *Amaurobius ferox* sobre *gyrinos de rã*, caranguejos, escorpiões e alguns insectos.

Mme. Physalix tem poucos estudos pessoaes sobre as aranhas; o veneno da *Cteniza sauvagei*, da Corsega, pouco activo, não occasiona, no camondongo senão uma narcose passageira, com pequena necrose local: (inj. hypod. de 2 gland.), mas, por injecção intramuscular é, muitas vezes, mortal para os pequenos passaros (morte em 20 horas com asthenia profunda pela suspensão da respiração); o veneno de *Phormictopus carcerides*, do Haiti, é muito mais activo: «é um veneno narcotico, hypothermisando e paralysando a respiração, que mata o camondongo em menos de uma hora por injecção d'um quinto de glandula, e o pardal somente dentro de 48 horas.

Blanchard, Calmette ([52]) citam opiniões de diversos auctores, sem acrescentar nenhuma observação pessoal, limitando-se a reconhecer a existencia de accidentes no homem e nos grandes mammiferos, emquanto que Berlèse acha as aranhas absolutamente inoffensivas.

Na America do Sul é preciso lembrar os estudos de Puga Borne sobre o *Latrodectus mactans*, no Chile; algumas experiencias de Mazza e Salovicz que obtiveram, em 18 horas, a morte de um cobaio picado por uma *Araña pollito* (uma grande caranguejeira) e as pesquizas anatomo pathologicas de Argerich sobre animaes de laboratorio; porem, os trabalhos mais importantes são os d'Escomel no Perú, e principalmente os de Houssay em Buenos Aires.

Houssay, em diversas publicações, estudou cuidadosamente o veneno de algumas especies da Argentina, particularmente o da *Lasiopelma grossum*, *Avicularia holmbergi*, *Eurypelma salvator* e *Theraphosa blondi*; infelizmente sua classificação não parece muito rigorosa, porque a Theraphosa blondi, especie rara, da Guyanna, pouco espalhada nas collecções, não se encontra na Argentina; segundo suas experiencias, muito interessantes, as grandes Theraphosidae matam o camondongo em alguns minutos, com symptomas um pouco variaveis, segundo as aranhas (provavelmente de especies differentes?) mas com predominio dos phenomenos paralyticos, devidos a uma curarisação cuja existencia demonstrou, repetindo a experiencia classica de Claudio Bernard: algumas d'estas aranhas até mataram, successivamente, tres coelhos, com intervallo de 15 minutos. As Epeiras não se mostraram perigosas para os animaes de laboratorio; as Polybetes e as Lycosas mataram raramente os camondongos; um camondongo picado por 6 grandes *Lycosas* pampeana, escapou da morte, emquanto que uma outra especie (não determinada) picou no mesmo dia um camondongo que morreu em dez minutos, com signaes de paralysia e intensas convulsões, um coelho que morreu no dia seguinte e finalmente um segundo camondongo que se restabeleceu, sem apresentar convulsões; no dia seguinte a mesma aranha picou um cobaio, que sobreviveu, do mesmo modo que um camondongo e dois dias mais tarde dois ratos brancos dos quaes um unico morreu, em 36 horas. Com o *Latrodectus mactans* (sempre por meio de picada directa) notou que os exemplares recentemente capturados mataram 85 % dos cobaios a mais do que os guardados em captiveiro; os animaes de sangue frio se mostraram absolutamente refractarios; 8 ratos tiveram symptomas accusados, mas se restabeleceram, 6 camondongos brancos morreram entre 5 e 24 horas; 2 cães apresentaram somente abatimento, paresia, tremores e vomitos ás vezes biliosos e sanguinolentos; os coelhos se mostraram muito resistentes apezar de picados por 5 ou 6 aranhas; os cobaios são, ao contrario, muito sensiveis, morrendo na media, em 2 ou 3 horas, por bronchospasmo e edema pulmonar (de 30 minutos a 30 horas): inquietações, gritos, agitação, tremores, hyperesthesia, espirros, depois paresia progressiva, cyanose, hypothermia e morte por suspensão de respiração; algumas vezes, se restabeleceram, apezar de haverem mostrado symptomas pronunciados.

Emfim, Houssay, com macerações de glandulas, obteve resulta-

dos comparaveis, porem muito mais fracos, dos obtidos, pela picada directa, conseguindo entretanto assim, a matar camondongos.

Escomel, num trabalho em que se desejaria, ás vezes maior clareza, depois de haver feito um certo numero de observações clinicas sobre a *Latrodectus mactans* ou *Lucacha* e a *Glyptocranium gastheracanthoides* emprehende experiencias com essas duas especies: os cobaios picados pela Latrodectus ficam, primeiramente, mergulhados n'um estado de estupor dando gritos frequentes; a respiração accelera-se, as pupillas contrahem-se; nota-se edema local e abundante secreção salivar, depois as patas posteriores entram em paresia, o animal abre a bocca e morre; ou então, depois de ter ficado, 2 ou 3 dias, n'esse estado, se restabelece pouco a pouco, o edema desapparece, forma-se uma eschara que se elimina, n'uma dezena de dias; picado, de novo, n'esse momento, por uma Latrodectus, o animal não apresenta senão symptomas attenuados; o sapo, mordido pela lucacha morre em tempo variavel; segundo Escomel a aranha é muito sensivel ao seu proprio veneno.

Na America do Norte, Comstock ([53]) não acredita que as aranhas sejam perigosas, mas assegura «should not like to be bitten by one of the larger tarantuler of the South», apezar de não conhecer nenhum accidente bem authentico.

Kellog conseguiu matar, em 10 minutos, um gato de 8 mezes, com convulsões clonicas, pela injecção subcutanea de 2 glandulas de *Latrodectus*, maceradas em agua distillada; elle fez, alem disso, uma preparação de assucar de leite addicionada de solução de glandulas em agua distillada e notou, sobre elle proprio, depois de ter absorvido, diariamente fracas doses d'essa mistura, uma notavel diminuição do pulso, dilatação da pupilla, dores occipitaes e contracções dos musculos abdominaes; até empregou, com successo, essa preparação para combater uma crise d'angina de peito n'um doente de 54 annos!

Baerg realisou diversas experiencias pouco precisas, primeiramente com uma caranguejeira (*Eurypelma hentzi*), depois com *Agelena naevia* e *Latrodectus mactans*, não obtendo senão muito fracos resultados que o animaram a tentar as 2 auto-experiencias que relatamos. A *Agelena naevia* provocou, em ratazanas, somente pequena somnolencia; outras ratazanas picadas pelo *Latrodectus* mostraram forte reacção local, movimentos spasmodicos, depois convulsivos, restabelecendo-se completamente em 12 horas; a caranguejeira, sem acção sobre o cobaio determinou no rato, uma forte paresia, seguida d'um periodo d'immobilidade e de estupor durante cerca de 5 horas; todas as experiencias de Baerg foram realizadas obrigando, a aranha segura na mão, a picar os animaes e, na experiencia da caranguejeira com o cobaio, Baerg teve de, primeiro, fazer incisão na pelle d'este ultimo para obrigar a penetrar um dos ferrões na ferida.

Todas essas experiencias são, assim, de pouco valor, em consequencia de technica defeituosa, sendo d'esse facto prova evidente o máo resultado obtido por Baerg, quando se fez picar pela *Latrodectus*.

De facto, quando se faz picar uma aranha, segurando-a, nem ao menos se consegue reproduzir o accidente natural, porquanto o

animal não dispõe dos movimentos naturaes indispensaveis ao funccionamento do seu apparelho inoculador. Alem d'isso, quando uma aranha pica mesmo em condições naturaes, ignoramos por completo a quantidade de veneno inoculado, o que traz como consequencia logica a imprecisão dos resultados experimentaes.

c) Natureza e propriedades physico chimicas do veneno das aranhas

Tendo-se em vista a difficuldade de obter o veneno puro e em quantidade sufficiente, as pesquizas sobre sua composição e propriedades physico-chimicas são muito pouco numerosas.

Os poucos auctores que abordaram esta questão concordam que é um liquido claro, incolor, de consistencia um pouco oleosa; Faust (54) lhe achou um gosto amargo, que Mme. Physalix não poude descobrir.

Blackwall, Faust, Kobert acharam sua reacção acida; Klinger (55), o primeiro, achou-a neutra, ou levemente alcalina nas caranguejeiras; Walbum retomando essa questão com a *Aranea diademata* e se collocando em varias condições de jejum e temperatura, observou que a reacção do veneno, sendo afastada a possibilidade de mistura com a saliva (alcalina segundo Blackwall e Walbum) pode, n'um mesmo exemplar e em condições que não poude determinar, variar de um dia a outro, de fortemente acida a fortemente alcalina, apezar de que esta ultima seja a mais frequente. Houssay, Sommer e Grecco acreditam-n'a sempre acida.

Em 1888 Breeger (56) indicou como principio toxico do veneno um alcaloide, se destruindo a 60° e coagulavel pelo alcool; Walbum recolhendo o veneno n'um tubo capilar fechado em seguida e mergulhado tempo variavel em banho maria, mostrou que a coagulação começa a 65°, é forte a 70° e completa a 75°; concluindo a presença de uma proteina, analoga chimicamente ás outras proteinas; infelizmente a pequena quantidade de veneno obtida não lhe permittio levar mais longe suas pesquizas.

Segundo Levy o veneno resiste perfeitamente á dessecação e as macerações das glandulas dessecadas são tão activas quanto as das glandulas frescas; alem disso, o veneno de *Tegenaria atrica* destruido na mesma temperatura, que as albuminas, não é alteravel pelos raios ultravioletas.

Wilson, empregando macerações de glandulas de theraphosidae (*Chaetopelma olivacea*) tinha obtido resultados analogos aos fornecidos pela picada de aranha; seguindo o mesmo methodo Houssay preparou extractos toxicos, porem menos activos do que a picada directa, e perdendo completamente a toxicidade quando aquecidos 30 minutos a 70°. Afim de poder comparar o veneno d'especies differentes, Levy utilisou igualmente macerações de glandulas em agua distillada ou em soro physiologico, empregando technica analoga á de Mme. Physalix.

Pesquizando o poder hemolytico do veneno, Walbum triturou, em soro physiologico, moscas picadas por *Araneas diademata*, pensando assim achar de novo o veneno na solução! Elle não observou nenhuma hemolyse com globulos de coelho, com ou sem addicção de lecithina. Qual teria sido, aliás, sua conclusão com um resultado positivo?! Retomando mais tarde e com maior cuidado essa experiencia, com veneno puro, recolhido por capillaridade, continuou negativo o resultado; tal foi igualmente a conclusão dos estudos de Levy sobre a *Aranea diademata* e *Segestria perfida*, e de Houssay sobre diversas especies da Argentina.

Walbum não poude, alem disso, descobrir no veneno a presença d'enzyma proteolytica, existindo, ao contrario, no succo salivar, onde já Westberg (1900) o tinha assignalado; entretanto Berland ([57]) formula a hypothese de que o conteudo das enormes glandulas de *Filestata capitata* poderia ser o mesmo liquido com o qual essa especie, assim como muitas outras, costumam humedecer sua preza antes de a chupar.

Emfim, diversos auctores sustentaram que a actividade do veneno podia ser influenciada por varias circumstancias, taes como a temperatura, a idade e o sexo da aranha; porem essas observações são ainda pouco precisas e pouco concludentes.

d) Outras toxinas extrahidas das aranhas

Kobert, estudando o veneno de diversas aranhas, tinha observado em algumas especies, que a maceração total era mais activa do que a do cephalothorax, onde estão localisadas as glandulas de veneno; d'ahi vieram numerosos trabalhos. Certos experimentadores estão persuadidos de obter, assim, maiores quantidades d'um principio toxico analogo ao das glandulas e espalhado em todo o organismo, ou localisado, mais particularmente, em certos orgãos; outros, ao contrario, acreditam na existencia de duas toxinas differentes e procuram demonstrar sua independencia.

Os trabalhos de Walbum estabelecendo as propriedades da toxina denominada por Sachs ([58]) arachnolysina devido ás suas propriedades fortemente hemolyticas, demonstrava de modo completo, a existencia de duas toxinas differentes na *Aranea diademata:* primeiramente o veneno das glandulas, constantemente presente, desprovido de hemolysina e d'enzyma proteolytica e um segundo corpo, arachnotoxina ou arachnolysina espalhado em todo o organismo, mais abundante no abdomen, existindo exclusivamente nas femeas na epoca de postura, nos ovos e nas aranhas novas extremamente hemolytico e proteolytico, susceptivel de provocar a formação d'anticorpos nos animaes immunisados com doses crescentes de extractos de aranhas.

Os trabalhos d'Escomel, de Levy e de Houssay confirmaram plenamente as conclusões de Walbum, ainda ampliando-as do seguinte facto, dos mais importantes: *a innoculação de doses fraccionadas de ovos não protege contra a picada da mesma especie (Escomel): um*

soro bastante activo contra os extractos de ovos não impede os effeitos da picada (Houssay).

Sendo nosso intuito estudar propriamente os venenos e não os extractos das aranhas, não insistiremos mais sobre este assumpto.

e) Immunidade

Como acabamos de ver, diversos auctores immunisaram animaes por injecção repetida e progréssiva de maceração total ou de ovos de aranhas. Esses resultados, porem, em nada podem nos esclarecer sobre a possibilidade de obter producção d'anticorpos com o veneno das glandulas. Esta questão ainda não foi tratada por nenhum auctor.

Escomel e Baerg notaram unicamente, o primeiro com o cobaio e o segundo com o rato, que esses animaes tendo escapado uma vez á picada da *Latrodectus mactans*, se mostram em seguida cada vez menos sensiveis á novas picadas; alem disso, Houssay tentou immunisar alguns coelhos, fazendo-os picar de 3 em 3 dias por um, dois até tres *Latrodectus*; esses animaes, porem, definharam rapidamente, um delles succumbiu e elle não obteve resultado algum com o soro dos dois outros.

Diversos auctores, tendo experimentado os soros anti-ophidico e anti-scorpionico de Butantan, de Calmette e de Lister, no tratamento dos doentes e em experiencias de laboratorio, acharam-n'os sempre inactivos. Emfim, Levy experimentando sobre o camarão, observou que a injecção d'uma mistura de soro sanguineo de *Tegenaria* e de uma dose mortal de veneno da mesma especie, deixados em contacto, in vitro, de 5 a 10 minutos, evitava a morte; experiencias analogas com outras especies não lhe forneceram nenhum resultado concludente, e segundo Escomel a *Latrodectus* seria sensivel ao seu proprio veneno. Convem, aliás, notar que a dose minima mortal de soro de aranha (femeas na epoca da postura) indicada por Walbum é para o coelho, por via venosa, de 0,03, e para o camondongo por via intraperitoneal, de 0,01 por kilogr.

As experiencias, sobre o mesmo assumpto, feitas por C. Physalix e Bertrand (59) offerecem pouco interesse, porque elles deixavam em contacto, durante 1 hora, a 72°, a mistura de soro e veneno, quando o veneno é muito fortemente attenuado (*), sendo somente aquecido 15 minutos a 70°.

(*) Vide — segunda parte, capitulo ...

I PARTE

PESQUIZAS PRELIMINARES

A revisão que acabamos de fazer dos principaes trabalhos publicados sobre os venenos de aranhas, e o araneismo clinico ou experimental, não dá senão uma ideia muito imperfeita do grão de actividade e do modo de acção d'esses venenos.

Sua toxicidade, negada por alguns, é confirmada pela existencia de numerosos accidentes sempre muito bem caracterisados. Em compensação, a parte experimental é completamente insufficiente, e os resultados contradictorios que ella fornece não permittem, d'um modo geral, verificar os dados clinicos.

Muitas causas explicam essa falta de accordo; primeiramente é necessario notar que a maior parte dos auctores se occuparam de especies differentes, nem sempre determinadas com a necessaria exactidão, e é natural suppor, a priori, que as propriedades do veneno se modifiquem, segundo os typos morphologicos, tanto mais que estes pertencem a grupos ás vezes muito afastados. Os resultados dependem tambem, consideravelmente das condições d'experiencia ou de observação e os factos citados na literatura, são raramente comparaveis entre si.

Até agora, nenhum outro methodo, alem da picada directa, sempre incerto, foi empregado para o estudo experimental dos «venenos araneicos» e algumas pesquizas feitas, com solutos de veneno, ficaram sem resultado. Antes de emprehender o estudo toxiologico dos principaes grupos de aranhas indigenas, dentre os quaes diversas especies foram accusadas de provocar accidentes graves, em nosso paiz, ou nos paizes limitrophes, era necessario estabelecer um methodo experimental seguro, que nos habilitasse a julgar das principaes propriedades d'esses venenos, permittindo o estudo comparativo dos mesmos: é o que procuramos estabelecer nesta primeira contribuição.

CAPITULO I

APPARELHO DE VENENO

a) Estructura externa

O apparelho de veneno das aranhas é formado de duas glandulas, em communicação com a extremidade do primeiro par de appendices, adaptado em orgão de apprehensão e de defesa. Collocados na parte anterior do cephalotorax, estes appendices ou cheliceras, de papel comparavel ás mandibulas dos insectos, porem de origem differente, são compostos somente de dois articulos, um corpo volumoso prismatico ou melhor, cylindrico-conico, encimado por um ferrão innoculador. Sua posição permittio dividir as aranhas em duas sub-classes: nas *mygalomorphae* ou *caranguejeiras*, são dirigidos para o eixo do corpo, que o prolongam anteriormente e o gancho dobra-se de cima para baixo; em todas as outras aranhas ou «*aranomorphae*» são perpendiculares ao eixo do corpo, collocados sob a parte anterior do cephalothorax, e o gancho dobra-se de fóra para dentro. São accionadas por poderosos grupos musculares, que se inserem na parte anterior do thorax, mas não podem se mover com inteira liberdade senão n'um sentido, vertical ou transversal; segundo sua orientação.

As glandulas têm a forma de empolas cylindricas, prolongadas cada uma por um canal excretor partindo do seu polo anterior; nas «mygalomorphae», quando ellas não estão senão parcialmente cheias de veneno, se reduzem a um longo canal, ligeiramente inchado na parte mediana. Esta forma imperfeita corresponde á figura dada por Duges para a «*Nemesia cementaria*», e reproduzida posteriormente em quasi todos os tratados de zoologia, como typo de glandulas de aranhas. No grupo primitivo das caranguejeiras ellas são completamente recolhidas no corpo da chelicera, em sua concavidade antero-dorsal; nas verdadeiras aranhas estão collocadas inteiramente debaixo da parte anterior da região cephalica (Nephila cruentata) ou parcialmente mettidas na parte basal das cheliceras (Ctenus). Vide estampa n. 2.

As glandulas são sempre livres, sem adherencias aos orgãos visinhos. Nas «*aranomorphae*», porem, se encontram rodeadas por massas musculares, partindo do thorax ás patas anteriores, representando essa disposição importante papel no seu funccionamento. O canal excretor vem se abrir um pouco antes da extremidade do ferrão das cheliceras, por um pequeno orificio de forma variavel.

b) Estructura histologica

A estructura histologica d'essas glandulas foi pouco estudada e as descripções publicadas estão longe de concordar entre si. Mac

Leod (1880) notou differenças sensiveis segundo as especies: em algumas observou uma membrana basica, lisa, formando em outras separações incompletas sobre as quaes repousaria um epithelium glandular formado de cellulas caliciformes, acompanhadas de uma serie de cellulas glandulares, de typo mal definido que, aliás, seriam assaz variaveis segundo as especies.

Bordas, um pouco depois, estudando as glandulas de *Latrodectus 13 guttatus*, descreveu una basal sobre a qual repousa um epithelium formado de cellulas altas, cylindricas, de protoplasma granuloso em sua base, claro na extremidade, porem elle acrescenta com razão que a secreção se effectua por fusão cellular.

Essas descripções pouco concordam entre si, e principalmente differem do que, o Dr. Dorival de Camargo, que amavelmente promptificou-se a nos prestar o seu auxilio nesta parte do trabalho, observou na *Ctenus medius*. Talvez esse desaccordo dependa das especies estudadas ou, mais provavelmente, do estado physiologico das glandulas. Estudaremos essa questão em tempo opportuno; n'este trabalho contentar-nos-emos em dar a seguinte nota, redigida pelo Dr. Dorival após uma serie de cortes de glandulas de *Ctenus medius*, em diversos periodos, de repouso e actividade, mostrando as differentes phases da formação do veneno:

Estudo histologico da glandula de veneno da Ctenus Medius

As glandulas de veneno da aranha são em numero de duas, collocadas na parte anterior do cephalo-thorax; apresentam uma forma variavel, conforme o estado de funccionamento, ou de repouso em que se encontram.

Para o estudo histologico, colhemos material em diversos periodos: antes da extracção do veneno, logo depois, e horas depois. Fixação em formol a 10 % e em solução saturada acida de sublimado.

Coramos pelo hematosilina e eosina e por hematoxilina Van-Gieson.

Em cortes ao microscopio observa-se que as glandulas são constituidas por uma espessa camada muscular estriada em 2 planos, sendo um circular e outro longitudinal; logo abaixo do plano muscular interno se acha uma membrana basal bastante espessa, da qual partem prolongamentos para o interior da glandula; tanto na membrana basal, peripherica, como nos seus prolongamentos se inserem cellulas epitheliaes, óra chatas, óra cylindricas, conforme o estado de vasio ou de plenitude da glandula.

Na glandula em periodo de activa secreção, observa-se junto á membrana basal peripherica, cellulas epitheliaes, com nucleo bem visivel, rico em chromatina, parecendo em começo de mitose e com um cytoplasma granuloso.

Nas camadas mais internas, as cellulas augmentam de volume, o protoplasma e o nucleo são comprimidos para a peripheria e a cellula enche-se de granulações amorphas, contidas por uma membrana bastante espessa; no meio dessas granulações, ainda no in-

terior de algumas cellulas, observam-se granulações maiores, de tamanho e forma variavel, com o aspecto de substancia colloide; com a continuação da secreção, as cellulas rompem-se e o seu conteudo é derramado no interior da glandula.

A glandula cheia de veneno ou em estado de repouso, apresenta o aspecto de um sacco, limitado pela camada muscular dupla e a membrana basal com algumas ramificações para o interior e cheio pelas granulações amorphas da substancia colloide e restos da armação cellular. Junto á membrana basal peripherica encontram-se algumas cellulas epitheliaes baixas, comprimidas pelo conteudo glandular.

O producto final da secreção é constituido no interior do sacco, pela substancia granulosa amorpha, corada em roseo pela eosina e amarello claro pelo Van Gieson, e pela substancia colloide corada em vermelho intenso pela eosina e em amarello intenso pelo Van Gieson, e pelos restos das cellulas destruidas.

Pelo que observamos podemos concluir que as glandulas de veneno da aranha, são formadas de cellulas epitheliaes que secretam uma substancia muito complexa e que se destroem para por em liberdade o producto de sua secreção, devendo, portanto, ser collocada no grupo das glandulas holocrinas.

No exame dessas glandulas, não vimos formação alguma de canal excretor, nos parecendo que ellas funccionam como um verdadeiro sacco e que quando cheio e comprimido pelos musculos que a envolvem, o producto de secreção é lançado em um canal contido no interior das cheliceras e dahi projectado para o exterior. Não nos foi possivel estudar o conteudo das cheliceras e no unico corte que tentamos nada conseguimos.

c) O veneno

É um liquido claro, de aspecto untuoso, existindo, em muito pequena quantidade, nas glandulas, e sobre cuja composição chimica não ha estudos positivos. Estudaremos adiante a sua solubilidade em diversos liquidos, assim como a sua resistencia ao calor e a alguns agentes chimicos.

Uma questão muito debatida é a da reacção acida ou alcalina, sobre a qual os auctores não estão de accordo. Acida para os antigos auctores europeos, neutra ou fracamente alcalina nas mygales para Klinger, acida para os argentinos. Walbum achou-a muito variavel, não somente na mesma especie, porem, até n'um mesmo individuo, sem poder dar explicação satisfactoria ao caso; nenhum outro auctor alem d'esse ultimo fez, entretanto, pesquizas systematicas sobre este assumpto. A questão continuando insoluvel, abordamol-a, estudando não só as variações de reacção em alguns exemplares guardados em captiveiro, como o fez Walbum, mas ainda em todos os individuos sacrificados por nossas outras experiencias: as glandulas retiradas do thorax, lavadas em soro physiologico neutro, em seguida enxugadas ligeiramente em papel de filtro, eram abertas e a reacção estudada com papel de tournesol muito sensivel.

De Maio a Setembro de 1924, no Instituto de Niteroi, unicamente com as especies *Ctenus Ferus, Enoploctenus germainii, Ctenus medius*, e *Nephila cruentata*, e deixando de lado os casos duvidosos, praticamos 251 pesquizas, sobre exemplares de tamanhos variaveis, dos dois sexos, salvo com a *Nephila cruentata*, da qual examinamos somente femeas e em condições as mais diversas. Parallelamente pesquizamos em todos esses casos, a reacção do sangue, chegando em relação a este ultimo, a resultados differentes dos de Walbum, e nunca d'antes assignalados: *«a reacção de sangue não é constantemente alcalina como o assegura Walbum, porem igualmente variavel, embora muito menos, do que o veneno.*

Nossos resultados não nos permittem, ainda, conclusões formaes; muitas vezes n'um mesmo lote conservado em condições identicas, com exemplares da mesma especie e sexo, mesmo tamanho, em jejum ou após as refeições, os venenos variavam de fortemente alcalinos a fortemente acidos; verificamos, entretanto, que no fim da estação quente, em temperaturas elevadas e humidas, todos os venenos possuiam uma reacção accentuadamente alcalina; deu-se uma brusca queda de temperatura, e todas as aranhas capturadas, n'essa occasião, mostraram uma reacção francamente acida, não somente no veneno, mas tambem no sangue.

Desde o principio de Junho, até o fim de Setembro a temperatura em Niteroi conservou-se pouco estavel, em geral bastante fresca, e em todas as especies recolhidas foram variaveis as reacções, porem com predominancia de reacções acidas no veneno, mais raras no sangue.

Experimentamos, por diversas vezes, deixar na estufa ou na geleira, uma porção de aranhas vivas, durante tempo variavel, de 2 a 7 dias; não tivemos senão poucas perdas na geleira a 15°; na estufa, a 37°, cinco *Ctenus ferus*, sobre 8, morreram em 24 horas na primeira experiencia; mas a temperatura de 33° é bem supportada com a condição de se conservar em atmosphera humida as aranhas. Os resultados foram bastante variaveis; parecendo indicar, entretanto, uma certa relação entre o frio e a acidez dos venenos.

Eis alguns dos nossos protocolos:

9-VI — 18 *Ctenus ferus*, machos e femeas, adultos ou quasi adultos, capturados na vespera; 6 são collocados durante 48 horas na geleira a 15°; 9 durante 24 horas na estufa, a 37°; 5 d'estes, morrem, os 4 restantes são transportados durante 24 horas na estufa, a 33°; 3 são guardados como testemunhas na temperatura exterior.

Numero de exemplares	Venenos	Soro
Estufa . 4 femeas	3 acidas — 1 francamente alcalina.	2 fortemente alc. 2 frac. alcal.
Geleira . 2 machos — 4 femeas.	4 fort. acidas — 1 frac. acida, 1 frac. alcal.	3 fort. alcal. 3 frac. alcal.
Temp. ext. 3 femeas	1 frac. alcalina, 2 fort. acidas	3 frac. alcal.

18-VI — 11 Ctenus deixados 5 dias, 5 na geleira (15°) e 6 na estufa (33°); um destes ultimos morre.

Numero de exemplares		Venenos	Soro
Estufa 33°	4 femeas adultas	2 fort. alc. 1 neut. 1 acid.	4 fort. alc.
	1 macho adulto	ligeiramente alcalina	1 fort. alc.
Geleira 15°	3 femeas adultas	3 fort. acidas	2 fort. alc.
	2 machos adultos	1 fort. acida. 1 frac. acida	1 fort. acid. 1 alc.

27-V — 3 Ctenus ferus machos adultos, 3 Ctenus medius (1 macho, 2 femeas) deixados 7 dias na estufa a 33°.

Numero de exemplares		Venenos	Soro
Estufa 33° Ctenus ferus —	3 femeas	3 fort. acidas	3 frac. alc.
Ctenus medius	2 machos	1 fort. acida 1 fort. alc.	1 frac. alc.
	1 femea	fort. alcalina	1 frac. alc. fort. alc.

A segunda d'essas experiencias é, de todas que executamos, a que parece mais demonstrativa da influencia do frio, o que estaria de accordo com nossas observações sobre as aranhas capturadas em differentes estações. A reacção do sangue, em geral alcalina, acompanha mais lentamente a acidez do veneno, e parece indicar que a reacção d'estes dois liquidos é normalmente identica, alcalina; em consequencia de uma baixa da temperatura exterior, o veneno tornar-se-ia assaz rapidamente acido, porem custaria mais a ficar, de novo, alcalino, com a volta do calor; o sangue é menos sensivel a esta acção do frio; a irregularidade d'essas variantes, sobretudo nas experiencias, depende, talvez, em parte da quantidade de veneno contido nas glandulas antes das modificações das condições exteriores, ás quaes o veneno já elaborado não deve ser sensivel, mas que modificaria os novos productos da actividade cellular. Esta influencia do frio, sobre a reacção, explicaria as divergencias entre os auctores citados, e parcialmente tambem as opiniões contradictorias sobre a actividade dos venenos araneicos em paizes differentes, «*os venenos acidos sendo menos activos do que os venenos alcalinos*», como exporemos mais adiante.

Os limites d'este trabalho não nos permittem senão de propor, sem examinal-a mais a fundo, esta explicação da variabilidade da reacção do veneno e do sangue das aranhas; este assumpto, entretanto, necessita ser retomado e apoiado por experiencias precisas, repetidas com differentes dias de intervallo, sobre as mesmas series de exemplares collocados successivamente em diversas condições.

d) Funcção do apparelho de veneno

O apparelho de veneno serve ás aranhas como meio de caça e de defesa; aliás, parecem não fazer uso do mesmo senão em caso de necessidade, para matar as presas demasiadamente grandes para serem dominadas d'outro modo, ou quando sentem-se atacadas, sem poder fugir.

Os pequenos insectos podem ser mortos igualmente por simples traumatismo (*), e muitas vezes, apezar de suas glandulas se acha-

(*) E' bem difficil de verificar o papel do traumatismo e do veneno nos insectos e as experiencias de Blackwall, de Bertkau e de Walbum sobre moscas foram explicadas n'um sentido ou no outro.

rem repletas, a aranha utilisa-se das cheliceras, sem deixar escoar veneno, que guarda como ultimo recurso; esta independencia do funccionamento das glandulas e da picada é um facto importante, frequentemente verificado em nossas experiencias, e que é preciso levar em conta na apreciação dos resultados obtidos pela picada directa.

CAPITULO II

ESPECIES QUE FORAM EMPREGADAS

Afim de nos orientar n'estas pesquizas preliminares, e de determinar as propriedades essenciaes dos venenos de aranhas, tivemos de escolher um pequeno numero de especies preenchendo diversas condições: faceis de se obter em quantidade sufficiente, possuindo veneno sufficientemente activo, emfim, pertencendo a grupos bastante distanciados para dar uma ideia geral do veneno araneico.

Realisamos innumeras experiencias com muitas especies communs nos arrabaldes do Rio de Janeiro, mas para simplificar a questão, limitar-nos-emos, n'esta primeira contribuição a quatro especies que estudamos mais particularmente, e que nos pareceram melhor preencher ás condições requeridas: são a *Ctenus ferus*, Perty, a *C. nigriventer*, Keys, a *Nephila cruentata*, Fabri, a *Trechona venosa*, Latr., as 3 primeiras pertencentes ás aranomorphae e a ultima ás mygalomorphae ou caranguejeiras.

A *Ctenus ferus* é uma aranha grande, a femea cinzenta escura, o macho quasi preto, podendo a primeira attingir 42 mm., o segundo 36 mm.; reconhece-se esta especie pelos seus olhos dispostos em 3 fileiras 2-4-2, pelas suas fortes cheliceras curvadas anteriormente, cobertas de pellos fulvos e pelas espinhas, em serie, das patas, implantadas em pontos brancos; as patas do macho são mais longas e espinhosas do que as da femea; quando é atacada, toma uma attitude ameaçadora, levantando suas patas anteriores, prompta a pular sobre as posteriores, funccionando como uma mola. Esta especie se encontra com muita facilidade nos arredores do Rio de Janeiro e Niteroi, sobre as bromelias; é encontrada igualmente no Estado do Espirito Santo e no litoral do Estado de S. Paulo.

A *C. nigriventer* é uma especie muito proxima da precedente, da qual se distingue pela fórma do apparelho genital e pela faixa amarellada da face dorsal do abdomen. Esta especie encontra-se com muita frequencia na capital e no interior de S. Paulo, de Minas, do Rio, de Goyaz e de Matto-Grosso. No litoral não tem sido encontrada.

A *Nephila cruentata*, de 25 mm., especie tropical, de rica synonimia é muito commum em certas regiões do Brasil e principalmente no litoral; tece no angulo dos muros ou dos rochedos, sob a orla dos tectos, ás vezes nas arvores, uma grande teia cinzenta esbranquiçada, regular, scintillante, provida, na parte superior, de um grande tubo sedoso, onde fica a aranha; a femea é facil de se reconhecer pelo esterno, d'um bello amarello dourado ou vermelho como o sangue, pelo enorme abdomen variando na parte dorsal, de cinzento ao preto profundo, ornado no lado ventral, de 4 manchas amarellas.

A *Trechona venosa*, que propomos de chamar popularmente caranguejeira riscada é uma grande caranguejeira de 55 mm., cinzenta escura, com o abdomen marcado na parte dorsal por 7 listas angulosas, rosas ou avermelhadas; apezar de muito commum nos arrabaldes do Rio de Janeiro, e fartamente distribuida pelo Brasil, é pouco conhecida; a descripção do macho acaba de ser publicada por um de nós (*). Encontra-se nas proximidades da cidade de São Paulo, uma variedade desta especie, caracterisada pelo menor tamanho e pela cor um tanto avermelhada.

CAPITULO III

EXPERIENCIAS POR PICADA DIRECTA

Salvo raras excepções, os auctores estudaram os venenos araneicos fazendo picar directamente os animaes de laboratorio por aranhas. Este methodo póde fornecer uteis indicações, mas, não offerece as garantias de precisão exigidas por trabalho scientifico, visando o estudo comparativo do veneno de diversas especies de aranha. Quasi todas as divergencias notadas nos differentes trabalhos publicados, até agora, lhe devem ser attribuidos: certas especies são muito aggressivas, outras difficilmente se resolvem a picar; o estado da aranha, a temperatura, o tempo passado desde a ultima refeição ou ultima picada, o modo de ataque, o ponto de innoculação, a espessura dos pellos ou das pennas do animal picado, podem modificar consideravelmente os resultados; sobretudo é impossivel avaliar a quantidade de veneno innoculada, quantidade variavel não somente segundo o tamanho e a especie, mas tambem conforme a disposição mais ou menos bellicosa da aranha, na occasião da experiencia.

Muitas vezes tambem os resultados obtidos pelo mesmo experimentador, com a mesma especie, variam em largos limites e não

(*) Dr. J. Vellard — Estudos de Zoologia — Archivos do Instituto Vital Brazil T. II. fasc. 2

se póde comparar a acção de varios venenos; um resultado positivo, mesmo uma unica vez é um facto convincente, porem um resultado negativo não permitte conclusão alguma.

Seguindo este methodo, realisamos, com as especies escolhidas, e muitas outras, um certo numero de experiencias, que confirmaram sua irregularidade e insufficiencia; alem d'isso, notamos um facto importante: para picar, a aranha junta suas patas anteriores e contrahindo-se, com força sobre esta base, segura rapidamente a victima com seus ferrões; se o veneno não foi despendido em ataques anteriores, o effeito d'essas picadas é muito energico. Ao contrario, quando mantidas na mão obrigadas a picar (*) privadas do apoio de suas patas, as aranhas se mostraram pouco perigosas, apezar de ficarem muito tempo presas ás suas victimas. É possivel que, alem do ponto de apoio que tomam sobre suas patas, a contracção das massas musculares, indo, nas *aranomorphae*, da parte anterior do thorax, ás patas dos 2 primeiros pares, auxilie a vasar a fundo as glandulas que ellas envolvem.

De posse d'essas noções, sempre que nos foi possivel, ensaiamos o methodo de picada directa, deixando a aranha dentro de um vidro, de tamanho proporcional ao dos animaes, em experiencia, de modo que o arachnideo gozasse de todos os movimentos necessarios ao exercicio do seu apparelho innoculador de veneno.

Eis alguns dos nossos resultados:

Ctenus-ferus.

Exp. 1 — Um camondongo, de cerca de 20 gr., é preso com 1 femea adulta, que, muito aggressiva, o morde rapidamente 5 a 7 vezes; o animal se agita violentamente, mas, na terceira picada, perde a agilidade caracteristica; fica completamente paralytico ao receber a ultima e, após alguns movimentos convulsivos, morre; tudo se passou n'um minuto.

Exp. 2 — Immediatamente após essa experiencia, um segundo camondongo é posto com a mesma Ctenus que, menos activa, não o morde senão 2 ou 3 vezes (11 h. 13); o pequeno roedor grita, mostra soffrer dôr e uma forte agitação, durante 5 minutos; depois se retira n'um canto, com o pello arrepiado e as patas e cauda agitadas por tremores convulsivos e intermittentes; a excitabilidade é exagerada, e qualquer contacto augmenta os tremores que degeneram, ás vezes em violentas convulsões de typo tonico; a salivação é abundante; ha um pouco de diarrhéa; uma hora depois, está completamente paralytico, não reagindo mais ás excitações, e morre durante a noite (depois de 17 h. 30). Não ha signal de reacção local.

Exp. 10 — Utilisando a mesma *Ctenus* desde 3 dias em repouso; os pellos da cabeça d'um cobaio de 48 gr. são cortados e o mesmo introduzido n'uma grande redoma; a Ctenus, muito aggressiva pica diversas vezes o cobaio que grita e se debate (9 h. 45); ás 9 h. 48 agitação violenta, tosse, salivação abundante, sem cessar engulida; ás 9 h. 53 a agitação augmenta, acompanhada de saltos desordenados e de convulsões, em seguida o jogo dianteiro abate-se pouco a pouco, os movimentos respiratorios tornam-se muito espaçados, os membros se paralysam; morre ás 9 h. 56, em 11 minutos.

Exp. 12 — O peito depennado de um pombo é collocado na entrada do tubo onde se encontra a *Ctenus*, em repouso ha tres dias; pouco activamente implanta uma unica vez seus ferrões; alem de perturbações analogas ás da

(*) E' muito difficil fazer picar as aranhas n'estas condições, ellas procuram se libertar e, nem bem livres, segurar a mão que as apertava.

experiencia 7, a cabeça e o pescoço viram-se para traz em opisthotonus uma hora após a picada; porem, dentro de tres horas se restabelece.

Exp. 16 — Utilisando uma femea de *Ctenus* sensivelmente igual á das experiencias precedentes. A cabeça d'um pombo é introduzida no tubo, e a aranha pica, por duas vezes (9 h. 58); agitação leve e intermittente, abundante secreção salivar e lacrymal, repetidos movimentos de deglutição (10 h. 08), grande encolhimento das patas (10 h. 22) fazendo-o cahir ás 10 h. 37; agitação viva, a pata direita é distendida para traz, em tetania (11 h.): ás 13 h. prostrado sobre o tarso, com as azas pendidas; muito melhor ás 11 h. e completamente restabelecido ás 17 horas.

Nephila cruentata.

Esta especie, muito pouco aggressiva fóra de sua teia, presta-se muito mal ás experiencias, recusando-se a picar quando em captiveiro: realisamos somente a seguinte experiencia:

Exp. 3 — Uma femea adulta segura na mão é obrigada a picar um camondongo na pata (11.30): nenhuma manifestação de dor immediata, porem no fim de 15 minutos o pequeno animal torna-se pouco activo, somnolento, arrastando-se com esforço; este estado persiste durante 1 hora, depois pouco a pouco melhora, ás 16.30 está restabelecido.

Trechona venosa.

Exp. 21 — Uma femea que ainda não chegou a seu completo desenvolvimento (15 mm.), capturada 2 dias antes, em jejum, é collocada n'um tubo (10.30) com um camondongo: muito excitada fére diversas vezes o murideo que esfrega o lugar ferido mas não apresenta nenhum symptoma.

Deante d'esse resultado negativo o mesmo animal é novamente introduzido no tubo: a *Trechona* lhe implanta, levemente, um dos seus ferrões na base da cauda, e o outro na parte superior da coxa esquerda (13,10): não apresenta symptomas immediatos. Ás 13,17 salivação abundante sempre engulida, a pata esquerda retrahe-se sob o abdomen, immobilidade entrecortada de bruscos movimentos: ás 13.30 salivação muito forte, caminha incessantemente, agitado por espasmos periodicos, o trem posterior em paresia: ás 13.43 convulsões, grandes tremores, em seguida crise de contractura geral: ás 13,50 dyspnéa intensa, a pata esquerda posterior arrasta-se para traz, inerte; ás 13,55 paraplegico: ás 14,15 paralytico, a salivação corre abundantemente, sem ser deglutida; abundante emissão de urina, clara, misturada de esperma no momento da morte, espasmos cada vez mais frequentes; morte n'uma convulsão, no fim d'uma hora e 37 minutos.

Exp. 25 — Um cobaio, collocado sob uma campanula, com um outro exemplar de Trechona não poude ser picado, por se recusar o arachnideo por-se em actividade, por mais que fosse excitado.

D'essas experiencias, assim como de todas as realisadas com outras especies, é difficil tirar conclusões seguras: a *Ctenus ferus*, em certos casos (Exp. 1 e 10) se mostrou particularmente perigosa e sempre mais aggressiva do que a Trechona e, sobretudo, do que a Nephila: porem deve-se attribuir esse resultado ás propriedades mais activas do veneno de Ctenus, ou á maior quantidade de veneno innoculada por esta especie? Pode-se concluir que o camondongo e o cobaio são mais sensiveis a esse veneno do que o pombo, ou que as condições de experiencia são menos favoraveis, com esse ultimo animal? Apezar de operar com a preoccupação de permanecer em identicas condições de experimentação, os resultados d'esse methodo não são comparaveis entre si, em consequencia de ficar sempre indeterminada a quantidade de veneno innoculado.

CAPITULO IV

EXPERIENCIAS POR INJECÇÃO DE SOLUTOS DE VENENO

Se a technica precedente não pode ser empregada com vantagem é, do mesmo modo difficil, operar com quantidade de veneno exactamente dosada; diversos experimentadores, notadamente Walbum e Houssay procuraram recolher, seja n'um tubo capillar, seja com uma substancia absorvente, papel filtro ou algodão, as pequenas gottas de veneno que ás vezes, se mostram na extremidade dos ferrões das cheliceras quando as aranhas estão muito irritadas; a quantidade assim obtida é sempre muito pequena, insufficiente para se prestar a experiencias numerosas. Walbum, recolhendo diariamente, durante duas semanas, o veneno de 100 grandes *Epeira diademata*, obteve 80 milligrammas, seja 0,mm.0571 por dia e por aranha; esse processo de rendimento insufficiente é pouco pratico, tendo, alem de tudo, o inconveniente de não dar a conhecer a quantidade de veneno de cada exemplar.

Outra technica, já empregada por Wilson em 1901, em seguida retomada por diversos experimentadores, consiste em triturar as glandulas de veneno em agua distillada ou em soro physiologico, e injectar a suspensão obtida, filtrada ou não.

As soluções assim preparadas, segundo varios experimentadores, são muito menos activas do que a picada, e Houssay consegue somente matar camondongos em vez de cobaios e coelhos, com symptomas identicos aos provocados pela picada.»

Apezar d'essa reserva, resolvemos a nos utilisar, na maior parte de nossas primeiras experiencias, d'esse processo simples e rapido, permittindo trabalhar com quantidade dosavel de veneno, cujos resultados foram confirmados posteriormente pelo emprego de veneno puro e dosado de accordo com uma technica especial de que trataremos mais adiante. Depois de alguns ensaios preliminares procuramos estabelecer, por numerosas experiencias, das quaes citaremos somente as principaes, um methodo preciso de preparar as soluções de veneno. Primeiramente trabalhamos muito com as *aranomorphae*, *Ctenus ferus* e *Nephila cruentata*. As aranhas eram mortas pelo chloroformio e as glandulas extrahidas do cephalo-thorax.

Para proceder-se a esta pequena operação, mantem-se fortemente o corpo da aranha entre o pollegar e o indicador da mão esquerda; por meio de uma pinça tomam-se com a mão direita, as cheliceras pela base, procurando-se dobral-as sobre o lado dorsal do cephalo-thorax; o tecido fino da articulação rompe-se permittindo, por ligeira tracção destacal-as do cephalo-thorax, acompanhadas das glandulas de veneno que lhes ficam suspensas. Puxando-se as cheliceras para diante ou para baixo, quasi nunca se consegue a extra-

cção das glandulas, porque estas se rompem no polo anterior, permanecendo no seu ponto de implantação.

Nas primeiras tentativas que fizemos, levamos simplesmente glandulas e cheliceras a um gral; trituramos o todo, tratando-o depois por um volume conhecido de soro physiologico. Com o liquido assim obtido, sem filtração, procedemos a algumas experiencias, que nos demonstraram os mesmos symptomas, embora menos intensos do que os obtidos por picada directa. Eis o protocolo d'estas experiencias:

Soluto A — Duas glandulas de Ctenus ferus são trituradas em 0cc,5 de soro physiologico.

Exp. 1 — 0,1cc. de sol. (0,4 gl.) mais 0cc,9 de ser. phys. são injectados na coxa de um camondongo de 17 gr.; gritos, dôr, agitação immediata; restabelecimento em uma hora.

Exp. 2 — 0cc,2 de sol. (0,8 gl.) são injectados na coxa d'um camondongo (18,5 gr.) sem addicção de ser. physiologico; gritos, grande agitação immediata; completamente molhado no dia seguinte, morre paralytico em pouco mais de 23 horas.

Soluto B — As glandulas de duas Ctenus ferus quasi iguaes ás precedentes são trituradas em 1 cc. de ser. physiologico.

Exp. 3 — 0cc,3 de sol. (1,2 gl.) mais 0cc,7 ser. phys. são injectados ás 13,16 na veia d'um pombo: agitação forte e immediata, cahe em dois minutos, intensa secreção pelo bico, tosse; completamente paralytico ás 13,22, as patas estendidas para traz, todo o corpo em opisthotonus com algumas convulsões tonicas intermittentes; começa a melhorar ás 16,30; restabelecido no dia seguinte.

Exp. 4 — 0cc,1 de sol. (0,4 gl.) mais 0cc,9 de ser. phys. são injectados na veia de um outro pombo ás 13,25; mesmos symptomas que precedentemente, mas os periodos d'excitação mais violentos, a paralysia menos accentuada; ás 16,30 a melhora é muito sensivel; restabelecido no dia seguinte.

Exp. 5 — 0cc,3 de sol. (1,2 gl.) mais 0cc,7 ser. phys. são injectados nos musculos peitoraes d'um outro pombo, ás 13,33; no local intensa trepidação muscular; ás 13,35 violentos tremores generalisados, porem os symptomas são menos accentuados do que precedentemente, somente as patas se acham em tetania, não ha opisthotonus; restabelecido no dia seguinte.

O quadro symptomatologico, como dissemos e se vê d'estas experiencias é o mesmo que se observa por picada directa, com a unica differença de ser mais apagado, indicando um effeito menos energico quando applicado por injecção o veneno, do que quando é inoculado pelos ferrões da aranha. Qual é a razão d'esta differença? Tres hypotheses se nos afiguraram como podendo influir sobre a atenuação da acção toxica do veneno n'este methodo experimental: *a*) possivel modificação da actividade do veneno pelo soro da propria aranha, soro esse acarretado para o soluto, por occasião do arrancamento das cheliceras; *b*) o grão de concentração ou de diluição dos solutos de veneno influindo sobre a actividade do mesmo; *c*) a natureza do vehiculo empregado no preparo de solutos, podendo influir sobre a quantidade de veneno contido nos mesmos.

Examinemos cada uma d'estas hypotheses, procurando precisar o que de verdade se poude verificar sob o ponto de vista experimental e logico.

a) Acção do soro sanguineo da aranha sobre o seu proprio veneno

Normalmente nos animaes venenosos, o soro de cada especie possue, em relação ao seu proprio veneno, um poder neutralisante mais ou menos accentuado. No tirar as glandulas e as cheliceras de aranhas uma pequena quantidade de sangue fica em volta das glandulas, na base das cheliceras, e impregna igualmente a pequena porção de tecido muscular que adhere ás cheliceras. Para evitar essa causa de erro, nas seguintes experiencias, lavamos, cuidadosamente, em diversas aguas, em soro physiologico glandulas e cheliceras, enxugando-as em papel de filtro. Com material assim, iseuto de soro de aranha, preparamos uma solução em soro physiologico.

N'uma primeira serie d'experiencias injectamos quantidade progressiva d'essa solução completada a 1 cc., pelo soro physiologico. Numa segunda serie de verificação nos utilisamos de doses equivalentes, mas depois da addicção de uma pequena quantidade de soro sanguineo da mesma especie, em dose muito superior a que poderia existir nas cheliceras.

Em um animal testemunha injectamos somente o soro sem addicção de veneno.

Algum tempo depois repetimos essas experiencias, utilizando unicamente as glandulas e excluindo as cheliceras. Os resultados de todos esses experimentos provaram que, em pequena dose, o soro de aranha em mistura com o veneno não modifica de forma alguma a marcha da intoxicação, não sendo por consequencia a pequena quantidade de soro nos solutos de veneno que teria contribuido para o enfraquecimento d'este.

Eis o protocolo d'estas experiencias:

As glandulas de 2 machos e 3 femeas adultas de *Ctenus ferus* são trituradas em 5cc. de serum phys.; 1cc. de sol. portanto, corresponde a 2 glandulas. O soro sanguineo é recolhido com uma pipeta depois de se haver arrancado as cheliceras.

1.ª Serie — Exp. 6 — O pombo recebe, na veia, 0cc,5 de sol. (1 gl. mais 0cc,5 de soro phys. (14,07); forte secreção buccal (14,09); cahe ás 14,12: grande agitação, contractura generalisada, opisthotonus ás 15,05; vomitos ás 15,20; sensiveis melhoras ás 16,00: no dia seguinte restabelecido.

Exp. 7 — Camondongo de 22 gr. recebe, na coxa, 0cc,5 de sol. (1 gl.) mais 0cc,5 de soro phys. injectados ás 14,12; gritos, viva agitação, intensa secreção bucal; a pata é estendida posteriormente, em tetania: ás 14,21 paresia posterior: ás 15,25 paralysia post., hyperesthesia notavel; morre paralytico em 44 horas.

Exp. 8 — Camondongo de 20,5 gr. recebe, na coxa, 1cc. de sol. (2 gl.) ás 14,20; gritos, violenta agitação, pata em tetania, forte secreção bucal, tremores generalisados degenerando em violentas convulsões; morte em 58 minutos.

Exp. 11 — Cobaio pequeno recebe 0cc,7 de sol. (1 gl. 5) mais 0cc,3 de soro phys. na ilharga ás 16,29: gritos, agitação immediata; caimbras na pata esquerda ás 16,32; abundante secreção salivar ás 16,46: durante a noite urina, diarrhéa abundante; o animal fica todo molhado, mas quasi restabelecido no dia seguinte.

2.ª SERIE — Exp. 9 — Um camondongo de 21 gr. recebe, na coxa, 1cc. de sol. (2 gl.) mais 0cc,1 de soro de aranha deixando em contacto 5 minutos (14,38); paralytico ás 15,20; morre em 1 hora e 6 minutos.

Exp. 10 — Um pombo recebe na veia, 1cc. de sol. (2 gl.) mais 0cc,1 de soro de aranha, deixados 5 minutos em contacto (14,52); queda immediata; forte secreção salivar; paralytico ás 15 horas com contracturas generalisadas, opisthotonus e convulsões tonicas intermittentes, se espaçando perto das 15,30; ás 16 horas ainda deitado, as patas em tetania, sem crises; restabelecido no dia seguinte.

Exp. 10 — Camondongo de 18 grammas recebe, na coxa, 0cc,2 de soro de aranha mais 0cc,8 de agua de cal; não apresentou symptomas de envenenamento.

b) Effeitos do grão de diluição dos venenos nas soluções, sobre a intensidade e energia de sua acção

O producto glandular, ou veneno puro é constituido por um liquido bastante denso, que contem cerca de 30 % de substancia solida. Quando, para os fins experimentaes, se prepara um soluto de veneno, não se consegue uma concentração igual ou identica ao veneno natural. Obtem-se soluções mais ou menos diluidas, em todo caso em grão de concentração muito inferior ao producto da secreção natural.

Em certos venenos, o grão de diluição ou o titulo da solução não tem grande effeito sobre a energia de acção; em outros, porem, tem um effeito decisivo, impedindo até a observação de certos symptomas ou de certas lesões que se verificam com o *veneno in natura*. N'este ultimo caso se encontram os venenos araneicos de effeitos locaes como os de *Nephila cruentata* e da *Lycosa raptoria*.

Os venenos neuro-toxicos, taes como os de *Ctenus* e da *Trechona venosa* são influenciados em grão infinitamente menor pela diluição, principalmente o desta ultima especie.

Como documentação d'estes factos, consignamos as seguintes experiencias:

Segundo a technica já descripta, preparamos uma solução de veneno de *Nephila cruentata*, triturando as glandulas de 40 femeas adultas em 4cc. de agua distillada.

Exp. 13 — Um camondongo de 20,5 gr., servindo de testemunha, recebe, na coxa, ás 14,02 0cc,1 de sol. mais 0cc,9 d'agua distillada; fraca manifestação de dôr, leve agitação durante 30 minutos, seguida d'immobilidade e de somnolencia; a pata injectada retrahe-se sob o abdomen; tocando-se o animal determina-se contracções espasmodicas das patas posteriores; ás 15,30 forte salivação, o pequeno animal principia a ficar levemente molhado; no dia seguinte, no lugar da picada começo d'um edema duro, que depois se estende a toda a parte posterior do corpo, levando para fóra a pata injectada, paralysada; a motilidade das patas anteriores é muito diminuida. Quando excitado, o animal se arrasta com difficuldade, sacudido por violentos tremores; está completamente molhado; a diarrhéa é abundante, a morte sobrevem em 47 horas.

O resto da solução é deixada na estufa a 37° durante 5 dias; assim se consegue uma pasta pardacenta, levemente viscosa, adherindo no fundo do vaso, se dissolvendo mal na agua distillada, fracamente no soro physiologico a 8 ‰ e em totalidade na agua de cal.

15 mmg. d'esse veneno secco são dissolvidas em 1cc. de soro phys., em seguida addiccionado de 0cc,5 de agua de cal; 0cc,1 d'essa solução corresponde a 1mmg. de veneno secco, dose essa que se approxima á de uma glandula.

Exp. 14 — Um camondongo de 19 gr. recebe na coxa 0cc,6 de sol. (6 gl.) ás 10,08; leve e curta agitação seguida de somnolencia com alguns tremores generalisados; um pouco de paresia post.; no dia seguinte estado geral melhorado, mas, á tarde, apparece um pequeno edema local, que se estende muito no dia seguinte; morte em mais de 60 horas.

Exp. 15 — Um pombo recebe na veia 0cc,8 de sol. (8 gl.) ás 10,14; immediatamente leve secreção lacrymal e nasal, somnolencia; ás 13 horas azas cahidas, movimentos espasmodicos da cabeça e do pescoço; completamente abatido ás 16,30, sem paralysia, nem tetania; restabelecido no dia seguinte cedo.

c) O vehiculo empregado para obtenção dos solutos do veneno tem effeito sob a energia de acção dos mesmos

Utilisando os dados precedentes sobre a solubilidade, em varios vehiculos, dos venenos dessecados, realisamos primeiramente, diversas experiencias para estabelecer o gráo de actividade das soluções de veneno em agua de cal, comparativamente á das soluções em soro physiologico. Assim, tratamos primeiramente por soro physiologico glandulas de Ctenus trituradas em areia fina; o residuo da maceração de glandulas de Ctenus, que ficou sobre o filtro, após esgotamento pelo soro physiologico, foi retomado pela agua de cal e as duas soluções assim preparadas foram injectadas em duas series de animaes.

A experiencia inversa foi tentada esgotando as glandulas primeiramente pela agua de cal e em seguida retomando o residuo pelo soro physiologico.

Essas experiencias foram concludentes; o veneno, quasi inteiramente soluvel na agua de cal, o é cerca de metade menos no soro physiologico; as soluções em agua de cal são sufficientemente toxicas, embora se verifique, pelo menos, para o veneno de Ctenus (1), que sua acção é mais fraca, e sobretudo menos rapida do que a propria picada da aranha.

Estes resultados são, entretanto, muito superiores aos obtidos, até o presente, por outros methodos. Notamos ainda que as soluções, em soro physiologico são muito limpidas, emquanto que as soluções em agua de cal são muito opalescentes.

Eis o protocolo de algumas experiencias realisadas:

1 — Soluto em agua de cal.

Sol. 11 — Veneno de *Ctenus ferus*, preparado segundo o methodo indicado, com exemplares de tamanho medio, glandulas e cheliceras lavadas, trituradas, depois addicionadas de agua de cal, filtração. Uma glandula corresponde a 0cc,3 da solução.

(1) Sendo a *Trechona venosa* pouco aggressiva, dificilmente podem ser comparados os resultados com esta especie.

Exp. 17 — Camondongo de 21 gr. recebe na coxa 0cc,1 de glandula em 0cc,5 d'agua de cal; morte em 14 minutos.

2 — Comparação das soluções em soro physiologico e agua de cal.

As glandulas de 6 *Ctenus* de grande tamanho são trituradas em 6cc de soro physiologico: 1cc corresponde a duas glandulas: sol. 13. O residuo que ficou sobre o filtro é retomado por 6cc de agua de cal: sol. 13-A.

Sol. 13 — (soro phys.).

Exp. 31 — Camondongo de 19,5 gr. recebe, na coxa, 0cc,3 de glandula em 0cc,5 de soro phys.; convulsões dentro de 31 minutos, morte em 57 minutos.

Exp. 32 — Camondongo de 19,6 gr. recebe, na coxa, 0,15 de glandula em 0cc,5 de soro phys.; convulsões dentro de 52 minutos, morte em 2 horas e 8 minutos.

Sol. 13-A — (agua de cal).

Exp. 31-A — Camondongo de 19,5 gr. recebe 0,3 de glandula em 0cc,5 d'agua de cal; convulsões dentro de 19 minutos, morte em 45 minutos.

Exp. 32 — Rato de 19,2 gr. recebe 0,15 de glandula em 0cc,5 d'agua de cal: convulsões dentro de 2 horas e 10 minutos; morte em 38 horas.

O soro physiologico, portanto, dissolveu um pouco mais da metade do veneno.

Sol. 19 — Preparada com veneno de 12 ctenus de tamanho medio, todos os venenos de reacção fortemente acida; depois d'um esgotamento pela agua de cal o residuo é retomado por uma quantidade igual de serum physiologico (Sol. 19-A).

Sol. 19 — (agua de cal).

Exp. 41 — Camondongo de 20,5 grs. recebe 0,3 de glandula em 0cc,5 d'agua de cal; immediata agitação violenta, gritos, salivação abundante, seguida de paresia, grandes tremores generalisados, sem convulsões; depois d'esses symptomas muito accentuados elle se restabelece gradualmente.

Sol. 19-A — (soro physiologico).

Exp. 42 — Camondongo de 20,2 grs. recebe uma glandula em 0cc,5 de soro physiologico; immediata e fraca agitação, porem de curta duração, salivação muito leve, não apresenta tremores nem convulsões; apezar da dose elevada injectada os symptomas são muito pouco accentuados, e elle se restabelece rapidamente.

Sol. 19-B — A solução em agua de cal é glycerinada a 40 % e, para rectificar o resultado, um camondongo de 21 grs. recebe no dia seguinte uma glandula d'esta solução conservada, por consequencia já attenuada.

Exp. 43 — Camondongo de 21 grs. recebe, na coxa, uma glandula; paralysia em 15 minutos, morte em 3 horas e 15 minutos.

Exp. 44 — Camondongo de 20,5 grs. recebe 0,5 de glandula; após um periodo de viva agitação apresenta, no fim d'uma hora, paralysia quasi completa, entrecortada de espasmos violentos; porem se restabelece pouco a pouco.

Apezar da pequena actividade da solução 19, devida á acidez do veneno, essa experiencia confirma as precedentes; a solução em agua de cal n'uma dose tres vezes mais fraca, se mostrou muito mais activa do que a solução em soro physiologico, quasi desprovida de actividade (Exp. 41 e 42) e, mesmo conservada se revelou muito mais toxica (Exp. 43). A agua de cal, é pois, o melhor vehiculo; quando se tenha de preparar solutos de veneno, por trituração das glandulas e cheliceras.

Conservação das soluções de veneno

Em baixa temperatura as soluções de veneno se conservam bem. Assim, durante o curso de nossas experiencias, tivemos occasião de

conservar, por muitos dias, as soluções com que trabalhavamos, sem a minima alteração, *no frigo* a-4°. Este recurso pode ser empregado, sempre que se tenha de conservar, por tempo limitado, quantidades relativamente pequenas de veneno. Quando, porem, se tenha de conservar grandes quantidades e por um prazo longo, como acontece no caso das experiencias sobre immunisação, este methodo não convem. N'este caso, valendo-nos de experiencias que tinhamos sobre a conservação dos solutos de veneno ophidico, empregamos a glycerina como meio conservador na porcentagem de 40 %. A actividade das soluções, n'estas condições, baixa sensivelmente no primeiro dia, muito pouco nos 2 ou 3 dias seguintes, mantendo-se depois quasi que inalteravel, por tempo bastante longo.

Convem ainda notar que, sob este ponto de vista, nem todos os venenos se comportam de modo perfeitamente identico, sendo indicado estudar-se, em cada um d'elles, a relação da toxicidade dos solutos frescos e dos conservados.

A agua de cal é, como vimos atraz, um excellente vehiculo. Não deve, entretanto, ser empregada, quando se tenha de estudar a acção hemolytica ou coagulante dos venenos, nem tão pouco quando se tenha de preparar grandes soluções para immunisação. No primeiro caso, teria o inconveniente de falsear ou difficultar os resultados; no segundo apresentaria o grave defeito de diminuir o poder antigenico das soluções, de accordo com o que tivemos occasião de observar no decurso de nossas experiencias sobre immunisação.

Como preparamos as nossas soluções de veneno

De accordo com as considerações que vimos de fazer e com a experiencia colhida na longa pratica que tivemos, n'este genero de trabalho, fixamos o seguinte methodo para o preparo de nossas soluções de veneno. As aranhas são conservadas, em jejum, durante alguns dias, cada uma em receptaculo separado, precaução essa indispensavel, para evitar que se trucidem umas ás outras. São mortas em seguida pelo chloroformio, a que são muito sensiveis.

Tratando-se das aranhas verdadeiras, as glandulas são extrahidas do cephalo-thorax de accordo com o methodo anteriormente descripto. Nas theraphosidae ou caranguejeiras, porem, em que as glandulas de veneno estão mettidas no interior das cheliceras, começa-se por decepar estas por meio de um golpe de tesoura, applicado no seu ponto de articulação, com o cephalo-thorax. Abrindo-se, então, as cheliceras e afastando-se cautelosamente as massas musculares n'ellas contidas, descobre-se na parte profunda da concavidade de cada uma d'ellas a glandula de veneno, de forma alongada e que é facilmente isolada.

Colhidas as glandulas de veneno, tanto n'um, como n'outro caso, são ellas cautelosamente lavadas em soro physiologico, enxutas em papel de filtro e trituradas em um pequeno gral com areia fina esterilisada. Á pasta assim obtida, junta-se agua de cal em quantidade proporcional ao numero de glandulas trituradas. Depois de intimo contacto com o vehiculo é o todo filtrado em papel

ligeiramente humedecido pelo mesmo vehiculo. Obtem-se assim uma solução titulada em relação a glandulas de veneno, de modo que 1 cc. da mesma corresponda a um certo numero de glandulas, sendo facil, segundo as necessidades da experiencia, fraccionar-se a solução conhecendo-lhe o valor em glandula ou fracção d'esta.

Para evitar como causa de erro, a variação do volume a injectar-se, completavamos sempre para 0cc,5 as doses fraccionarias das soluções empregadas. Assim, se tinhamos de empregar 0cc,1-0cc,2 ou 0cc,3 de solução, completavamos respectivamente o volume com 0cc,4-0cc,3 ou 0cc,2 de agua de cal. Podendo a actividade das soluções variar sensivelmente, por multiplas razões, estabelecemos, por meio de multiplas experiencias, para cada especie de aranha uma solução typica, permittindo julgar, por comparação, do grão de actividade de qualquer solução d'essa especie e de approximar experiencias feitas com soluções de actividade differente.

Para o veneno de Ctenus ferus, por exemplo, fixamos, como solução typica, a que na dose de 0,1 de glandula, no volume de 0cc,5 mate, por injecção intramuscular um camondongo de 20grs. em menos de uma hora.

Nas experiencias mais delicadas, taes como as que se referem ao poder hemolytico, coagulante e proteolytico, etc., nos utilisamos das glandulas, excluindo as cheliceras e empregando como vehiculo o soro physiologico. Para conhecer a toxicidade absoluta dos venenos e comparal-os de modo seguro, sob esse aspecto, conseguimos, por meio de um aperfeiçoamento technico, obter venenos puros e seccos com os quaes nos foi possivel estabelecer as minimas mortaes, por peso, o que trouxe mais precisão ás nossas experiencias, permittindo-nos, alem d'isso, controlar os resultados obtidos anteriormente.



II PARTE

ESTUDO DE ALGUNS VENENOS

CAPITULO I

TOXICIDADE DOS VENENOS

De posse d'um processo pratico de preparar soluções de veneno muito activas, dosadas com exactidão e comparaveis entre si, passaremos a estudar os quatro typos já escolhidos aos quaes acrescentaremos a *Lycosa raptoria*, especie de que trataremos em ultimo lugar.

Nas experiencias empregamos o camondongo, o rato branco, o cobaio, o pombo, o coelho e diversos animaes de sangue frio, serpentes e sapos, usando comparativamente, as vias sub-cutanea, intramuscular, e a endovenosa; mais raramente as injecções intradermicas. Os symptomas sempre foram identicos aos observados por picada directa. Com o veneno de Ctenus, porem, por via sub-cutanea, nunca registramos mortes tão rapidas, como as produzidas pela mesma especie por picada directa, e em condições favoraveis. A diminuição na acção d'esse veneno, quando em solução é explicada pela sua grande diluição. Em todas as experiencias os resultados obtidos foram muito regulares, perfeitamente comparaveis entre si, proporcionaes á quantidade de veneno injectada e, como era de prever, muito differentes, segundo as especies de aranhas.

Emfim, tendo conseguido como dissemos anteriormente obter veneno puro e dessecado, completamos essas pesquizas estabelecendo, d'um modo seguro, a minima mortal de diversos venenos, para os differentes animaes de laboratorio, verificando, assim, exactamente, a enorme actividade de alguns d'elles.

Veneno de Ctenus ferus

É um veneno exclusivamente neuro-toxico, muito activo, sem acção inflammatoria local; provoca caimbras localisadas, seguidas de tetania geral, convulsões tonicas, progressiva paralysia e morte por suspensão de respiração. Ha sempre grande hypothermia acom-

panhada d'eschemia dos tegumentos, grande augmento de todas as secreções, salivar, lacrymal, etc., diarrhêa e hematuria, quando a morte é assaz lenta. As injecções hypodermicas ou intramusculares causam dor forte, intensa trepidação muscular, immediata paralysia, em extensão forçada, do membro injectado, e geral e violenta agitação. Esses primeiros symptomas não se apresentam quando é empregada a via venosa, sendo então os primeiros signaes observados a dyspnéa, e a hypersecreção salivar.

Segundo a actividade das soluções, dependente em grande parte, da alcalinidade ou da acidez dos venenos, a morte sobrevem, por injecção hypodermica ou intramuscular, em tempo variavel, porem sempre bem mais longo do que por picada directa. A minima mortal é muito proxima da maxima mortal; quer dizer, doses superiores á mais fraca, causando morte, não matam muito mais rapidamente do que esta ultima. Abaixo da minima mortal observam-se symptomas cada vez mais fracos, á medida que diminuem as doses de veneno empregadas. Por injecção intravenosa a morte é muito mais rapida, podendo ser quasi immediata; a dose minima mortal é muito mais fraca e enorme a differença entre as doses minima e maxima mortaes. A eliminação de veneno parece rapida pois quando os animaes não morrem, se restabelecem muito rapidamente. O pombo se mostrou muito resistente a esse veneno, emquanto que o camondongo, o cobaio e coelho são muito sensiveis. Um Ctenus de tamanho medio permitte matar 20 camondongos por via intramuscular, 100 por via venosa, 2 cobaios (via subcutanea), 1 coelho (via venosa) e somente 1 pombo (via venosa). Após innumeras experiencias estabelecemos, como solução typica, a que, em dose de 0,1 de glandula para 1 volume de 0,5 matasse em menos d'uma hora, um camondongo de cerca de 20 grammas.

a) — **Camondongo.** — No momento da injecção intramuscular na coxa, o camondongo se agita fortemente, grita e a pata fica immediatamente paralysada, em extensão forçada; depois d'um primeiro periodo de agitação violenta, cuja duração é proporcional á actividade da injecção, devido á intensidade da dor, durante a qual o animal corre de todos os lados, gritando, dando pulos desordenados que degeneram ás vezes em convulsões epileptiformes, esfrega e morde o lugar ferido, o murideo se acalma pouco a pouco, perde sua habitual vivacidade, encolhe-se como se fôra uma bola, com os pellos eriçados, triste, dyspneico; abundante secreção salivar o obriga a movimentos incessantes de deglutinação; pouco a pouco apparecem tremores localisados nas extremidades dos membros, a principio curtos, de pouca extensão, em seguida cada vez mais prolongados, logo se tornando generalisados e continuos; a excitação, até então sempre crescente, desapparece progressivamente; a parte posterior do corpo entra em paresia; as caimbras degeneram em accessos de contracções cada vez mais violentas, com paroxysmos, durante os quaes o animal fica n'um estado de tetania geral; em seguida sobrevem convulsões muito violentas; desde então a paralysia é completa, a saliva não é mais deglutida e corre abundantemente, todas as funcções d'excreção ficam perturbadas, o animal fica molhado,

ha diarrhéa, urinas abundantes, algumas vezes sanguinolentas: quando a morte se dá, uma hora após a injecção, a temperatura cahe progressivamente, os movimentos respiratorios tornam-se espaçados, espasmodicos, e o animal morre n'uma fraca convulsão.

Com veneno alcalino, fresco, a morte sobrevem em menos d'uma hora, em media em 25 a 40 minutos, seja qual for a dose injectada; com veneno acido, ou soluções glycerinadas com antecedencia de alguns dias, a morte pode ser muito demorada pois, embora as convulsões appareçam quasi sempre em menos d'uma hora, o periodo agonisante de paralysia se prolonga, então, por tempo variavel, algumas vezes de 24 horas.

Se a dose de veneno é insufficiente, após o primeiro estado de agitação, segue-se um periodo mais ou menos longo de somnolencia ou de paresia, com uma serie de caimbras mais ou menos extensas, seguidas ou não de paralysia; mas não apparecem as convulsões; desde o momento que ellas se apresentem, o prognostico é fatal, porque precedem a suspensão da respiração; quando não apparecem convulsões o animal se restabelece muito rapidamente, dentro de poucas horas, mesmo após haver estado completamente paralytico.

Com injecção endovenosa os symptomas são identicos, porem a morte é mais rapida, proporcional á quantidade de veneno injectada, podendo sobrevir em menos de 5 minutos; o periodo de agitação inicial não se dá e os primeiros symptomas são a abundante salivação, as caimbras e a paralysia immediatamente seguida pelas convulsões.

A minima mortal por via intramuscular é em media de 0,1 de glandula; por via intravenosa, 5 vezes mais fraca.

Eis alguns dos nossos protocolos:

Por picada directa um camondongo de cerca de 20 grs. morre n'um minuto.
Injecção intramuscular.

Sol. 17, fresca, preparada com 9 Ctenus grandes ou medios; todas as glandulas alcalinas.

Exp. 16 — Camondongo de 24 grs. rec. 2 glandulas; morte em menos de 34 minutos.

Exp. 17 — Camondongo de 21 gr. rec. 1 glandula; convulsões em 19 minutos, paralysia em 29 e morte em 35 minutos.

Exp. 18 — Camondongo de 19 gr. 5 rec. $^1/_3$ de glandula; morte em 27 minutos.

Exp. 19 — Camondongo de 22 gr. rec. 0,1 de glandula; morte em 44 minutos.

Exp. 21 — Camondongo de 20 gr. rec. $^1/_{30}$ gl.; leve salivação, hyperexcitação seguida de paresia; restabelecido em 12 horas.

Exp. 22 — Camondongo de 18 gr. rec. $^1/_{60}$ gl.; um pouco de paresia, restabelecido em 12 horas.

Esta solução preparada e em seguida glycerinada, a 22 de Maio, serve para novas experiencias a 24, 27 e 28; sua actividade depois de ter baixado enormemente nos 3 primeiros dias, se manteve, em seguida igual.

24-V.

Exp. 24 — Camondongo rec. 0,1 gl.; tremores generalisados e contracções espasmodicas em 19 minutos, paralysia em 30 minutos; melhora dentro de 3 horas e restabelecimento em 48 horas.

Exp. 25 — Camondongo rec. 1/15 gl.: symptomas mais fracos do que os da exp. 24, tremores menos violentos, forte paresia sem paralysia, restabelecido dentro de 24 horas.

27-V.

Exp. 27 — Camondongo de 18,5 gr. rec. 0,1 gl.: caimbras e contracções sem paralysia em 1 hora, notavel melhora em 2 horas; restabelecido em 24 horas.

Exp. 28 — Camondongo de 19 gr. rec. 0,2 gl.: em 16 minutos intensa salivação, forte paresia, paralytico em 45 min.; cahido de costas, entregue a violentas crises de contracção, durando cada uma 2 a 3 min.; começa a melhorar em 1 h. 30 e procura levantar-se; restabelecido no dia seguinte.

28-V.

Exp. 29 — Camondongo de 18,5 gr. recebe 0,3 gl.: convulsões dentro de 23 minutos, morte em 32 minutos.

A solução apresentando um precipitado assaz abundante e filtrada e a metade d'esse precipitado retomado por 1cc. de agua de cal; 0cc,5 são injectados n'um rato e não provocam nenhum symptoma. (Exp. 34).

Venenos acidos

Com veneno de *Ct. ferus* de reacção acida realisamos diversas experiencias; apresentamos as 3 seguintes, de 9 e 18 de Junho, feitas com venenos dos quaes estudamos detalhadamente as reacções; todos os nossos outros resultados concordam com estes.

Sol. de 9-VI: 3 venenos alc., 10 francamente acidos; todas as aranhas de grande tamanho.

Exp. 45 — Camondongo de 18 gr. rec. 0,25 gl. (sol. fresca); violentos tremores generalisados, salivação, paresia seguida de paralysia post.; restabelecido em 24 horas.

Exp. 46 — Camondongo de 18 gr. rec. 0,75 gl. (mesma sol. glycerinada conservada 26 horas): em 20 minutos, convulsões em 1 h. 20, paralysia completa, hematuria, morte em 2 h. 15.

Sol. de 18-VI: 10 Ctenus de grande tamanho; 3 venenos alc., 1 quasi neutro, 6 acidos.

Exp. 47 — Camondongo de 16,5 gr. rec. 0,45 gl. (solução glycerinada no momento): convulsões em 35 minutos, morte em 1 h. 30.

Injecções endovenosas

(em uma das veias caudaes do camondongo)

Pesquizas realisadas com uma unica solução preparada com 5 Ctenus de tamanho medio.

Testemunhas — Exp. 117 — Camondongo de 17,5 gr. rec. 0,3 intramuscular; paralytico em 1 h. 05, morre em 1 h. 58.

Exp. 128 — Camondongo de 18 gr. rec. 0,15 intramuscular: em 28 minutos forte tetania de toda a parte posterior do corpo, em 30 minutos paralysia quasi completa; após 2 h. 30 começa a melhorar; quasi restabelecido em 6 h.

Exp. 129 — Camondongo de 16 gr. rec. 0,1 gl. intramuscular, symptomas quasi tão accentuados quanto os da exp. precedente, restabelecido ao mesmo tempo.

Via venosa.

Exp. 125 — Camondongo de 23 gr., rec. 0,15 gl.: immediatamente forte dyspnéa, salivação abundante; em 2 min. convulsões, seguidas de contracções generalisadas e de completa paralysia; morte em 19 minutos.

Exp. 126 — Camondongo de 14 gr. recebe 0,06 gl.; salivação immediata, dyspnéa, caimbras nas 4 patas, as post. em extensão forçada, tremores muito violentos, convulsões em 24 min., morte em 26 min.

Exp. 127 — Camondongo rec. 0,02 gl.; unicamente algumas caimbras leves nas patas ant. e pequena salivação; restabelecido em 1 hora.

Exp. 131 — Camondongo de 18 gr. rec. 0,04 gl.: salivação assaz forte, algumas caimbras nas patas ant. seguidas de grande somnolencia; restabelecido em 3 horas.

Exp. 132 — Camondongo de 20,5 gr. rec. 0,04 gl.: tristeza, grande salivação, tremores generalisados; restabelecido em 3 horas.

Exp. 133 — Camondongo de 20,5 gr. rec. 0,35 gl.: immediata salivação e dyspnéa intensa, tremores generalisados, contracções violentas em todo o corpo, diminuição dos movimentos respiratorios, eschemia accentuada das orelhas e do focinho; convulsões e morte em 4 minutos e 45 segundos.

b) — **Cobaio.** — O cobaio é bastante sensivel a esse veneno, e os symptomas quasi completamente identicos aos observados no camondongo, porem é mais fraco o periodo de agitação, a paralysia mais completa.

A minima mortal é apenas superior a 1 glandula por via subcutanea.

Exp. 23 — Cobaio de 355 gr. rec. 1 glandula; (1 sol. fresca 0,1 mata 1 rato em 41 min. ; immediatamente gritos, violenta agitação, pulos desordenados, expirações violentas, tosse; uma hora após a saliva corre abundantemente, tetania generalisada com crises espasmodicas; uma hora e meia depois da injecção a paralysia é completa, a morte parece imminente; entretanto, no dia seguinte cedo o animal está muito melhor, podendo ficar de pé, as caimbras não apparecendo senão por occasião dos movimentos voluntarios; diarrhéa abundante; restabelecido em 48 horas.

Exp. 26 — Cobaio de 270 grs. (mesma solução que na exp. 23) rec. 1 gl. 2; violenta agitação seguida de paresia, convulsões em 1 h. 02, paralysia e morte em 1 h. 35. Temp. rectal às 13,55, no momento da injecção 37°3; às 13,45, 36°8; às 14,07, 37°6; às 14,37 o thermometro marcando 36°5, não sóbe; morte às 15,20.

c) — **Pombo.** — As primeiras experiencias sobre esse animal, seja por picada directa, seja com soluções em soro physiologico não deram senão resultados mediocres. Retomando essas pesquizas com soluções em agua de cal verificamos a grande resistencia do pombo a essa especie de veneno. A minima mortal por via endovenosa, é cerca de 2 glandulas.

Exp. 20 — Pombo rec. na veia 1 glandula (sol. fresca matando 1 rato em 44 minutos); immediatamente muito abundante secreção pelo bico e pelas narinas; cahe em um minuto agitado por tremores violentos; 5 minutos após contracções generalisadas, opisthotonus, extensão forçada das patas; alongadas posteriormente (fig. 13); dyspnéa muito forte, violenta expiração, tosse; esse estado persiste durante 2 horas, entrecortado de curtos periodos de grande agitação; depois a paralysia completa-se pouco a pouco, e a morte parece imminente; entretanto, no dia seguinte cedo, a melhora é notavel: o pombo, ainda cahido, é agitado por continuos tremores, tendo as patas em posição normal; as contracções desapparecem; quasi restabelecido na manhã do outro dia, notando-se apenas que qualquer excitação determina uma serie de caimbras nas azas.

Exp. 124 — Pombo rec. 2 gl. por via endovenosa; immediatamente cahe para diante com as azas abertas, as patas primeiro dobradas, depois em extensão forçada (4 minutos); 9 minutos após a injecção, tetania geral, as patas alongadas post., as azas estendidas, o pescoço dobrado, a cauda distendida, convulsões intensas; os movimentos respiratorios se tornam espasmodicos, muito espaçados; em 20 minutos o animal está completamente paralytico, quasi apneico; morre em 36 minutos n'um quasi completo estado de algidez.

Exp. 119 — Pombo rec. nos musculos peitoraes 2 glandulas da solução precedente (exp. 124); cahe immediatamente sobre o tarso, com as patas contractadas, abundante secreção pelo bico e as narinas; intenso tremor muscular, caimbras na aza correspondente: no dia seguinte está ainda cahido sobre o tarso, com um pequeno tremor intermittente na aza correspondente á injecção; os outros symptomas desappareceram; restabelecido em 48 horas.

d) — **Coelho.** — Para esse animal a minima mortal é por via venosa, de cerca de 1 gl. 5.

Exp. 62 — Coelho de 1,655 grs. recebe 1 gl. 2 por via endovenosa; 3 minutos após a injecção accusa grande paresia dos membros post., tornando difficil o andar, o obrigando a se deitar logo; em 18 minutos a paralysia é completa, as 4 patas estiradas, rigidas; 1 hora e 30 minutos após a injecção, entretanto, a melhora é sensivel, as patas não estão mais em tetania; porem, existe grande secreção buccal e accessos intermittentes de caimbras localisadas; depois se restabelece gradualmente, achando-se em estado normal no dia seguinte.

Testemunha — Exp. 18 — Camondongo de 11,5 gr. rec. 0,3 gl. intramuscular, morre em 1 h. 55.

Necropsia dos animaes mortos por este veneno

e) — N'este primeiro trabalho limitar-nos-emos a constatar as lesões macroscopicas, identicas no cobaio e no camondongo.

No lugar da injecção nenhuma reacção; pela abertura da cavidade abdominal nota-se leve derramamento seroso no peritoneo (igualmente em todas as outras serosas, pleuras, pericardio e meningeas); figado com abundante pontilhado hemorrhagico, intestino delgado muito congestionado, contendo liquido abundante; os rins são a séde de intensa congestão, muitas vezes com infartus hemorrhagicos; em certos casos o conteudo da bexiga é fortemente hematurico e nota-se, alem d'isso, abundante secreção bronchica e tracheal, embaraçando as vias respiratorias; as meningeas e os hemispherios cerebraes muito congestionados; os outros orgãos normaes. (*)

Veneno de Ctenus nigriventer

A *Ctenus nigriventer* é uma especie morphologicamente muito vizinha da *Ctenus ferus* que ella substitue nos arrabaldes de S. Paulo, onde é commum em casas velhas, nas casas de termites ou cupim. As propriedades d'esse veneno são sob todos os pontos de vista, muito semelhantes ás da *Ctenus ferus*, porem ainda mais accentuadas como o demonstram as seguintes experiencias. D'estas

(*) Na necropsia dos animaes mortos por Ctenus nigriventer nota-se congestão interna e focos hemorrhagicos.

experiencias e das realisadas com veneno secco, e que relataremos mais tarde, deduzimos as seguintes minimas mortaes. Para o cobaio e para o rato, por injecção subcutanea, um pouco menos de 0,4 de glandula; e 2/3 glandula para o coelho e o pombo, por via endovenosa.

Exp. 202 — Cobaio de 290 gr. rec. 1 gl. 2 intramuscular; gritos immediatos, n'um minuto paralysia completa entrecortada por fracos espasmos e convulsões; morte em 35 minutos.

Exp. 205 — Cobaio de 250 grs. rec. 0,6 glandula intramuscular; gritos, viva agitação, abundante salivação (15 minutos), convulsões (30 minutos), paralysia e morte em 1 hora e 5 minutos.

Rato branco — Exp. 230 — Rato de 181 gr. rec. 1 gl. intramuscular; immediatamente a pata estira-se para traz, sobrevem viva agitação, intensa hypersecreção, forte paresia em 20 minutos; serie de violentas convulsões em 40 minutos; paralysia e morte em 1 h. 30.

Exp. 203 — Rato de 123 gr. rec. 0,5 gl. intramuscular; gritos, incessantes agitações, salivação abundante, convulsões (em 1 hora 13), paralysia e morte em 2 horas 58.

Coelho — Exp. 204 — Coelho de 1145 gr. rec. 1 gl. 2 por via endovenosa; immediatamente forte paresia post.; e, 10 minutos paraplegia, incoordenação dos movimentos; dyspnéa intensa, respiração estertorosa, querendo avançar receia, vacilla; paralysia em 15 minutos, morte em 27 minutos, n'uma fraca convulsão.

Pombo — Exp. 206 — Pombo rec. 2 glandulas, por via endovenosa; immediatamente paralytico, morre em 12 minutos.

Exp. 207 — Pombo rec. 1 gl. por via endovenosa; immediatamente paralytico, tetania geral com paroxismos violentos; apezar da morte parecer imminente, se restabelece gradualmente, achando-se completamente normal no dia seguinte pela manhã.

Os animaes de sangue frio são pouco sensiveis a esse veneno; um grande sapo (*Bufo agua*) de cerca de 200 grs., recebendo 1 glandula em injecção subcutanea, no lado int. da coxa, não apresenta senão algumas caimbras locaes e tremores fibrillares (exp. 229); uma *Phylodrias shooti* não accusou symptoma algum (exp. 228); um *Drymobius bifossatus* (254) tendo recebido 2 mg. de veneno secco por injecção intracardiaca, e um *Xenodon Merremii* de grandes dimensões, tendo recebido a mesma dose intracraneana (255) não apresentaram nenhum signal de envenenamento.

Veneno de Trechona venosa Latr.

É um outro veneno exclusivamente neurotoxico, extremamente activo, provocando violentas convulsões tonicas, intenso estado de tetania, seguido de paralysia e morte acompanhada de grandes perturbações de todas as secreções, notadamente nos intestinos, de derramamento abundante em todas as serosas; a dyspnéa é muito forte e a hyperesthesia notavel no começo: não existe signal de reacção local, porem, tendencia a hemorrhagias (exp. 226-231).

A minima mortal por via intravenosa é muito proxima da minima por via intramuscular, n'este ultimo caso a marcha da intoxicação é muito mais lenta: abaixo do limite mortal os symptomas são apenas sensiveis; a maxima mortal é muito afastada da minima e

segundo a quantidade de veneno injectada, a morte pode ser immediata ou a apparição dos symptomas muito retardada, seguida de grande sobrevivencia; desde a apparição dos symptomas geraes, salivação forte, paresia e contracção dos membros inferiores, a morte é quasi certa, com os venenos frescos, porem, com venenos modificados por diversos agentes physicos ou chimicos, o animal pode se restabelecer, depois de ter apresentado notaveis perturbações. A concentração mais ou menos grande das soluções não exerce senão pouca influencia sobre sua toxicidade.

O pombo é muito sensivel a esse veneno, o camondongo e principalmente o rato o são muito menos; a sensibilidade do cobaio, em relação ao peso é pouco diversa da do rato; os animaes de sangue frio são assaz sensiveis. O contendo das glandulas d'um exemplar adulto d'essa aranha é sufficiente para matar 200 pombos, 100 ratos, 4 coelhos e somente 2 cobaios.

Sendo o pombo dotado d'uma sensibilidade maior e mais regular para esse veneno, escolhemos, como *solução padrão*, uma solução em que, na dose de 0,05 glandula, mata, por via intravenosa, um pombo adulto em menos d'uma hora.

a — **Pombo.** — Após haver recebido uma dose media de veneno de Trechona o pombo fica primeiramente immovel; por injecção intramuscular nota-se simplesmente tremor muscular local muito forte, e a aza correspondente, a principio levantada, pela violenta contracção dos musculos motores, fica em seguida, pendente e agitada por continuo tremor; logo apparecem os phenomenos geraes; o animal sente certa difficuldade de ficar de pé, os dedos se contrahem em flexão, tropeça continuamente, muda sem cessar de posição, depois vacilla, cahe, as patas esticadas com tendencia a se collocar em extensão e após ter procurado diversas vezes se levantar é preso de convulsões tonicas de variada intensidade segundo a dose de veneno; finalmente cahe definitivamente, completamente paralytico, rigido, em opisthotonus, sacudido por tremores generalisados e continuos; todo o corpo em extensão forçada, as patas tesas alongadas para traz, as azas semi-abertas, a cauda aberta em leque, durante as crises paroxysticas, a cabeça voltada para traz: é a crise tetanica com paroxysmos violentos determinados pela menor excitação e que não se finalisa senão, pela morte, no meio de intensas convulsões.

Antes da queda do animal nota-se já o escoamento pelo bico e pelas narinas, de uma pequena quantidade de liquido mucoso regeitado, em certos momentos, por bruscas expirações; nos casos não mortaes essa hypersecreção e uma leve contracção passageira nas patas são os unicos symptomas notaveis; mas quando o pombo já está paralytico, um espesso liquido muito abundante corre fora do bico, muitas vezes misturado com detrictos alimenticios, os movimentos respiratorios são precipitados, a respiração penosa, embaraçada pela mucosidade bronchica; quando a morte é assaz lenta existe sempre diarrhéa abundante.

Com uma dose media de 0,04 a 0,2 de glandula esse quadro evolue em uma ou duas horas e em menos de 30 minutos o animal

fica paralytico; com venenos modificados ou doses muito fracas a morte pode sobrevir muito lentamente e os primeiros symptomas não apparecem senão 24 horas após a injecção. Uma dose massiça, cerca de uma glandula injectada na veia, provoca uma violenta convulsão e o animal morre em menos d'um minuto, no estado de contracção, caracteristico d'esse envenenamento. A minima mortal é muito fraca, cerca de 0,01 de glandula por via venosa; muito pouco mais elevada por via intramuscular.

Solução 1 — preparada com exemplares femeas, attingidas á metade de seu tamanho normal.

Exp. 80 — Pombo rec. por via venosa, 1 glandula; immediatamente convulsões, morte em menos d'um minuto com uma forte contracção.

Exp. 79 — Pombo rec. por via venosa 0,2 gl.; convulsões e paralysia em 1 minuto, morte em 7 minutos.

Exp. 89 — Pombo rec. por via venosa 0,05 gl.; convulsões e paralysia em 9 minutos, morte em 1 h. 14.

Exp. 91 — Pombo rec. por via venosa 0,01 gl.; sobrevive, quasi sem apresentar symptoma algum.

Exp. 81 — Pombo rec. por via intramuscular 1 gl.; convulsões e paralysia em 18 min., morte em 58 min.

A mesma solução é glycerinada, sol. 1.ª, e utilisada 24 horas depois.

Exp. 92 — Pombo rec. por via intramuscular 1 gl.; convulsões e paralysia em 20 min., morte em 55 min.

Solução 2 — preparada com exemplares de mesmo tamanho.

Exp. 98 — Pombo rec. por via venosa 0,02 gl. (ás 13 h. 55); paralysia e convulsões em 30 minutos, morte durante a noite.

Exp. 101 — Pombo rec. intramuscularmente 0,5 gl.; paralysia e convulsões em 22 min., morte em 45 min.

A mesma solução glycerinada é utilisada 24 horas mais tarde. Sol. 2-A.

Exp. 102 — Pombo rec. intramuscular 0,5 gl.; paralysia e convulsões em 25 min., morte em 55 min.

Exp. 103 — rec. intramuscular 0.1 gl.; paralysia e convulsões em 32 min., morte em 65 min.

Exp. — 104 — Pombo rec. intramuscular 0,05 gl.; paralysia e convulsões em 1 h. 30, morte em 20 horas.

Exp. 105 — Pombo rec. intramuscular 0,02 gl. (ás 12.20); encontrado paralytico no dia seguinte cedo, morre em cerca de 36 horas.

Solução 3 — preparada com 2 grandes exemplares adultos.

Exp. 146 — Pombo rec. por via venosa 0,05 gl.; convulsões e paralysia em 9 min., morte em 31 minutos.

Exp. 147 — Pombo rec. por via venosa 0,01 gl.; convulsões e paralysia em 54 min., morte em 3 h. 24.

Exp. 150 — Pombo rec. intramuscular 0,01 gl.: leve paresia, caimbras intermittentes nas patas, cahido mas sem paralysia nem contracções generalisadas; restabelecido em 24 horas.

Exp. 154 — Pombo rec. intramuscular 0,02 gl.; convulsões e paralysia em 1 h. 15, morte entre 60 e 72 horas.

b — **Camondongo.** — No camondongo os symptomas são assaz proximos dos observados no pombo, os accessos tetanicos, porem, são menos violentos, mais lentos a apparecer e menos generalisados, com predominio da paralysia sobre os outros symptomas. Um camondongo recebendo na coxa, por via intramuscular, uma dose

media de 0,05 a 0,2 de glandula, grita durante a injecção, nem bem livre se mostra muito excitado, mordendo a pata que immediatamente se colloca em extensão posterior, completa; depois de acalmada a primeira dor, sobrevem um periodo d'inquietação, durante a qual o animal anda sem parar, não fazendo senão muito curtas pausas.

Quando a dose de veneno injectada é inferior á 0,05 de glandula (minima mortal) não se nota nenhum outro symptoma e o animal se restabelece rapidamente; com uma dose superior, perde pouco a pouco a vivacidade natural, a parte posterior do corpo entra em paresia, o pequeno roedor fica immovel; a pata injectada é séde frequente de caimbras locaes, durante as quaes permanece estirada, rigida para traz, emquanto que nos intervallos das crises arrasta-se inerte; então, em outros pontos apparecem caimbras, na cauda, patas posteriores, em seguida anteriores, focinho, pellos do focinho eriçados, accionados de movimentos anormaes, acompanhados de violentos tremores, de salivação, d'emissão de urinas e fezes; logo essas caimbras se approximam, se generalisam, o animal fica completamente entregue á tetania, com paroxysmos, deitado de lado, não reagindo mais ás excitações, tendo somente leves caimbras nas patas; os movimentos respiratorios são espasmodicos, muito espaçados e a morte se dá numa convulsão.

Com injecção endovenosa, esse quadro se desenvolve mais rapidamente, a apparição da salivação é quasi immediata, e após uma curta phase de agitação, as 2 patas post. se alongam, rigidas; sobrevem, então, tremores generalisados, caimbras, a paralysia augmenta rapidamente; produzem-se alguns violentos espasmos diaphragmaticos e a morte é muito mais rapida do que por via intramuscular. A minima mortal é de cerca de 0,05 de glandula por via intramuscular, um pouco menos por via venosa.

Solução 1 — Exp. 77 — Camondongo de 21 gr. 5 rec. 1 gl. intramuscular; morre em 20 min.

Exp. 78 — Camondongo de 18 gr. 5 rec. 0,2 gl. intramuscular; morre em 1 h. 20.

Solução 2 — Exp. 99 — Camondongo de 21 gr. rec. 0,05 gl. intramuscular (solução fresca); pode apenas andar 3 horas mais tarde, morre durante a noite, em mais de 5 horas.

Exp. 104 — Testemunha: Pombo rec. 0,05 gl. da mesma solução glycerinada ha 24 h. (sol. 2-A) intramuscular; morre em 20 horas.

Solução 3 — Exp. 116 — Testemunha: Pombo rec. 0,05 gl. intravenosa; morre em 31 min.

Exp. 151 — Testemunha: Pombo rec. 0,02 gl. intramuscular; morre em 72 horas.

Exp. 151 — Camondongo de 19 gr. rec. 0,01 intramuscular; leve paresia post. e fracas caimbras; restabelecido em 18 horas.

Exp. 152 — Camondongo de 18 gr. rec. 0,01 gl. intravenosa; immediata agitação, notavel salivação; restabelecido em 20 horas.

Exp. 155 — Camondongo de 17,6 gr. rec. 0,02 gl. intramuscular; leve paresia post. e caimbras fracas; restabelecido em 21 horas.

Solução 4 — Exp. 170 — Testemunha: Pombo rec. 0,02 gl. intramuscular; paresia e caimbras fortes; restabelecido em 18 horas.

Exp. 175 — Testemunha: Pombo rec. 0,05 gl. intravenosa; paralysia em 25 minutos, morte em 1 h. 30.

Exp. 172 — Camondongo de 19 gr. rec. 0,05 gl. intramuscular; paresia e caimbras fortes; restabelecido em 3 dias.

Exp. 173 — Camondongo de 18,6 gr. rec. 0,02 gl. intravenosa; salivação e caimbras immediatas, morte em 60 horas.

Exp. 174 — Camondongo de 19,5 gr. rec. 0,03 gl. intravenosa; paralysia em 6 h., morte em 24 horas.

c) — **Rato branco.** — Os symptomas, n'este animal, são quasi identicos aos observados no camondongo com predominio de phenomenos paralyticos; notamos sempre alem d'isso, hemorrhagias occulares. A minima mortal é um pouco superior a meia glandula.

Solução 6 — Exp. 224 — Testemunha: Pombo rec. 0,05 gl. intravenosa; morre em 35 min.

Exp. 226 — Rato de 255 gr. rec. 1 gl. intramuscular; paralytico em 60 min., morre em 1 h. 34. (Hemorrhagia occular em 1 h.).

Exp. 231 — Rato de 246 gr. rec. 0,5 gl. intramuscular; forte paresia em 3 horas, quasi paralytico em 6 horas, hemorrhagia occular no dia seguinte cedo; quasi restabelecido em 48 horas.

d) — **Coelho.** — O coelho é muito sensivel a esse veneno e morre com menos de meia glandula por injecção na veia; com os mesmos symptomas que o cobaio e o camondongo.

Mesma testemunha que para o rato (exp. 224).

Exp. 225 — Coelho de 735 gr. rec. 1 gl. intravenosa; morre em 7 minutos.

Exp. 227 — Coelho de 1.400 gr. rec. 0,5 gl. intravenosa; morre em 2 h. 30.

e) — **Cobaio.** — Este animal é bastante resistente ao veneno de *Trechona:* a morte com doses elevadas (mais d'uma glandula) é sempre lenta e os primeiros symptomas podem não apparecer senão 24 horas após a injecção. A minima mortal é, mais ou menos de 1 glandula.

Solução 1 — Exp. 84 — Testemunha: Pombo rec. 1 gl. intramuscular; paralytico em 18 minutos, morre em 58 minutos.

Exp. 82 — Cobaio de 454 gr. rec. 1,5 gl. sub-cutanea (14 h. 11); gritos e inquietação immediatos; 2 horas depois leve paresia e secreção salivar; 3 horas mais tarde hypersecreção forte, paralysia post. completa, forte paresia ant., tremores continuos e generalisados; morre durante a noite.

Exp. 88 — Cobaio de 413 gr. rec. 1 gl. sub-cutanea (10 h.); pequena salivação e paresia post., 2 horas após a injecção; ás 16 h. tremores generalisados, salivação intensa, paresia posterior muito accentuada. Morte durante a noite.

Solução 1-A — (Solução 1 glycerinada).

Exp. 93 — Cobaio de 473 gr. rec. 1 gl. sub-cutanea; 24 horas mais tarde começa a se apresentar leve salivação seguida d'um periodo d'inquietação, durante o qual o animal anda incessantemente, sacudido por tremores espasmodicos (temp. 36°2); morre em 36 horas, mais ou menos.

Solução 2 — Exp. 100 — Cobaio de 418 gr. rec. 0,5 gl. sub-cutanea; nenhum symptoma, alem d'uma leve salivação, muito passageira.

f) — **Animaes de sangue frio.** — Os animaes de sangue frio são, como dissemos, sensiveis a esse veneno; meia glandula é suf-

ficiente para matar um grande sapo, e 0,3 de glandula provoca já accidentes graves nos ophidios.

Exp. 176 — *Bufo arenarum* de 200 gr. rec. 0,5 glandula, em injecção sub-cutanea, no lado int. da coxa (26-X ás 9 h. 20); o animal primeiro fica immovel, fortemente dyspneico; tremor fibrillar e caimbras na pata; 30 minutos mais tarde forte secreção buccal; 1 hora depois frequentes caimbras, andar difficil, notavel paresia post.; no dia seguinte a pata está meio paralytica e séde de caimbras repetidas; no outro dia o animal está paraplegico; completamente paralytico no quarto dia; e morre mais ou menos em 78 horas (29-X-15 h.).

Exp. 186 — *Drymobius bifossatus*, adulto (comprimento, 1. m. 55, peso 400 gr.; rec. 0.3 gl. sub-cutanea: (13 h. 50) perto das 14 h. 30 já se nota a existencia d'uma paralysia post. progressiva, quasi completa ás 15,50; ás 19 h. está completamente immovel, n'um estado de morte apparente, não reagindo mais ás excitações; começa a melhorar no dia seguinte cedo; completamente restabelecido em 48 horas.

Necropsia dos animaes mortos por este veneno

Por occasião da necropsia dos animaes: camondongos, ratos, coelhos, cobaios, encontra-se pequeno derramamento liquido, em todas as serosas; os bronchios e a trachéa cheios de mucosidades. Todos os orgãos fortemente congestionados, o baço e o figado com abundante pontilhado hemorrhagico; os pulmões retrahidos, com pontos congestionados, e ás vezes com pequenos fócos hemorrhagicos; o rim normal. O rato branco apresentou sempre hemorrhagia occular notavel.

Veneno de nephila cruentata

Ao contrario dos dois precedentes, o veneno de *Nephila cruentata* é quasi desprovido de acção geral; possue, entretanto, notavel acção local. A injecção sub-cutanea d'uma solução de 2 glandulas provoca, no cobaio, viva reacção no ponto inoculado, vermelhidão, edema extenso, com pequena papula central, não chegando a formar eschara, uma grande fadiga geral e leve hypersecreção; o edema não começa a retrogradar, senão dentro de 3 ou 4 dias; com dose identica o edema, no camondongo, se estende, em 24 horas, a toda a parte posterior do corpo e a morte pode sobrevir até mesmo em 2 ou 3 dias; a hypersecreção e a fadiga são mais accentuados e nos casos graves ha sempre diarrhéa.

A injecção intravenosa de 2 glandulas, no camondongo, não provoca senão perturbações passageiras, pouco sensiveis.

No pombo, 2 glandulas injectadas na veia não determinam nenhum symptôma; doses massiças (8-12-16 glandulas) trazem notavel hypersecreção, espasmos mais ou menos violentos e ás vezes vomitos; o animal cahe para deante com o pescoço estirado, o bico aberto, em seguida sobrevem convulsões mais violentas acompanhadas de paralysia; a morte se dá em poucos instantes ou após ter ficado, 10 a 15 minutos, n'este estado, o pombo procura se levantar e se restabelecer em menos d'uma hora, não apresentando senão uma grande fadiga.

No coelho a injecção endovenosa de 8 glandulas não provoca senão fadiga passageira.

Afim de melhor verificar a acção local d'esse veneno, approximando-nos o mais possivel das condições naturaes da picada, injectamos algumas gottas de solução na espessura do derma de um cobaio; os resultados foram mais claros, e obtivemos de cada vez, um edema consideravel com uma zona central de tegumentos seccos e enrugados; pouco a pouco forma-se em volta d'esse ponto um sulco d'eliminação e uma pequena eschara s'elimina em alguns dias.

Recentemente retomamos essas experiencias, modificando um pouco o methodo experimental.

As glandulas, separadas das cheliceras, são trituradas n'um vidro de relogio com pequeno bastão de vidro.

Toma-se um pouco de veneno liquido do qual se injecta uma gotta, seja puro, seja após a addicção de uma gotta de glycerina na pelle do abdomen. Salivação e fadiga passageira; 1 hora mais tarde sensivel reacção local, edema e papula; no dia seguinte, o edema toma a metade post. do abdomen; localmente a pelle está secca sem eschara, estado geral bom; no quarto dia o edema começa a diminuir.

Exp. 68 — Camondongo rec. 1 gl. 2 sub-cutanea; muito leve edema na mesma tarde, notavel no dia seguinte; principiando a diminuir no outro dia; nenhuma perturbação geral.

Exp. 69 — Cobaio rec. 3 gl. intradermica, na parte lateral do abdomen: 3 horas após leve edema; no dia seguinte o edema é enorme, occupando grande parte do abdomen; começa a se formar pequena eschara; no quarto dia apparece um sulco d'eliminação e a eschara cahe.

Solução 3 (fresca) — Exp. 73 — Coelho de 1.012 gr. rec. 8 gl. por via venosa; nenhum symptoma alem de leve fadiga.

Exp. 74 — Pombo rec. 8 gl. por via venosa; immediatamente o pescoço alongado, o bico aberto; convulsões e completa paralysia em 5 minutos; 15 minutos depois da injecção procura se levantar, 20 minutos depois da injecção consegue ficar de pé e 1 hora mais tarde não mostra senão uma pequena somnolencia.

Exp. 75 — Pombo rec. 11 gl. por via venosa; convulsões e paralysia em 3 minutos, vomitos; restabelecido dentro d'uma hora.

Exp. 76 — Pombo rec. 16 gl. por via venosa; morte immediata n'uma convulsão.

Solução 4 — Exp. 136 — Camondongo rec. 2 gl. sub-cutanea; fadiga, notavel salivação; grande edema no dia seguinte.

Exp. 137 — Camondongo rec. 1 gl. por via venosa; nenhum symptoma.

Exp. 139 — Camondongo rec. 2 gl. por via venosa; leve dyspnêa, somnolencia e salivação. Restabelecido em 1 hora.

Solução 5 — Exp. 201 — Cobaio; injecção intradermica no lado externo da coxa direita d'uma gota d'uma maceração de glandulas em glycerina; na mesma tarde enorme edema; no dia seguinte placa de necrose e formação d'um sulco d'eliminação; 5 dias mais tarde cahe a eschara.

Actividade do veneno puro e secco, indicada ponderalmente

Afim de conhecer a exacta actividade desses venenos conseguimos preparar veneno puro e secco, nos permittindo dosar exactamente as quantidades empregadas; as soluções preparadas com ve-

neno secco são mais activas do que as soluções preparadas pelo processo precedente, no qual uma parte do veneno fica retida na areia.

Para obter o veneno em estado de pureza isolamos as glandulas de alguns exemplares de cada especie, e, depois de as ter separado das cheliceras seccamol-as, na estufa, a 37° (ellas perdem assim, cerca de metade a 2/3 de seu peso) ; as glandulas foram em seguida pesadas, depois tratadas por soro physiologico (a agua de cal não apresenta vantagem nesse processo) e o veneno extrahido por meio de uma leve pressão, com um bastão de vidro. As glandulas assim esvasiadas foram de novo seccadas e pesadas; a differença entre essas duas, pesadas, corresponde ao veneno dissolvido no soro physiologico. Operando com uma quantidade conhecida de vehiculo, facil é deduzir o peso de veneno empregado em cada injecção.

Os venenos de *Ctenus ferus*, *Ctenus nigriventer* e de *Trechona Venosa*, que assim estudamos, se mostraram de uma actividade comparavel á dos venenos ophidicos, o veneno de *Nephila cruentata*, porem, de acção fraca, exclusivamente local.

Veneno de Ctenus ferus

Quatro glandulas de 2 exemplares femeas de grande tamanho são tratadas, segundo a technica indicada. O peso de cada glandula é de 2,16 mmg.

Exp. 320 — Coelho 19 (peso 1.900 gr.), rec. 0,325 mmg. na veia; symptomas immediatos, paraplegia; começa a restabelecer-se depois de uma hora.

Exp. 326 — Coelho 32 (peso 1.130 gr.), rec. 0,4 mg. na veia: paraplegico em 15 minutos; morre durante a noite.

Exp. 321 — Cobaio 62 (peso 300 gr.), rec. 0,16 mg. intramuscular: dyspnéa forte, paralytico em uma hora; restabelecido no dia seguinte.

Exp. 333 — Cobaio 14 (peso 330 gr.), rec. 0,25 mg. intramuscular; morre em 1 hora e 3 minutos.

Exp. 326 — Coelho 32 (peso 1.130 gr.), rec. 0,4 mg. na veia; paraplegico em 1 hora, hemorrhagia occular; restabelecido no dia seguinte.

Exp. 334 — Rato 15 (peso 90 gr.), rec. 0,4 mg. intramuscular; morre em 1 hora e 5 minutos.

Exp. 328 — Camondongo 9, branco, de 21 gr., rec. 0,03 mg. intramuscular; agitação violenta, paraplegia; começa a melhorar 4 horas depois da injecção.

Exp. 330 — Camondongo 11, de 25 gr., rec. 0,04 mg. intramuscular; morre em 37 minutos.

Exp. 332 — Pombo 69, rec. 1,3 mg. por via venosa; paralytico em 5 minutos; restabelecido no dia seguinte.

Exp. 331 — Pombo 128, rec. 1,4 mg.; morre em 14 minutos.

Veneno de Ctenus nigriventer

Oito glandulas de exemplares de differentes tamanhos (grandes e medios) são tratadas, segundo a technica indicada; o peso de veneno puro e secco, contido nas 8 glandulas, é de 10 mgs.)

Exp. 247 — Coelho de 920 gr. rec. 2 mg. (1 gl. 6) intravenosa; convulsões em 1 minuto, morte em 8 minutos.

Exp. 248 — Coelho de 950 gr. rec. 1 mg. 0,8 gl. intravenosa: morre em 21 minutos.

Exp. 300 — Coelho de 1.100 gr. rec. 0,3 mg. (0,26 gl.) intravenosa; morre em 1 hora e 10 minutos.

Exp. 301 — Coelho rec. 1 mg. (0,8 gl.) intramuscular; morre em 1 hora.

Exp. 350 — Coelho rec. 1 mg. 5, (1,2 gl.) intradermica; morre em 1 hora.

Exp. 247 — Coelho de 920 gr. rec. 2 mg. (1 gl. 6) intravenosa; convulsões violentas, paralysia; morte em 12 minutos.

Exp. 251 — Cobaio de 230 gr. rec. 0,5 mg. subcutanea (0,4 gl.); morte em 35 minutos.

Exp. 302 — Cobaio de 286 gr. rec. 0,3 mg. (0,26 gl.) intramuscular; morre em 42 minutos.

Exp. 252 — Pombo rec. 1 mg. intravenosa (0,8 gl.); morte em 16 minutos.

Exp. 253 — Pombo rec. 0,5 mg. intravenosa (0,4 gl.); quasi nenhum symptoma.

Veneno de Trechona venosa

Tres glandulas de exemplares meio adultos são tratadas segundo o processo indicado. O peso do veneno secco e puro contido nas 3 glandulas é de 2 mgs.5.

Exp. 261 — Pombo rec. 0,0625 mg. (0,075 gl.) intravenosa; paralytico em 17 minutos; morte em 52 minutos.

Exp. 263 — Pombo rec. 0,025 mg. (0,03 gl.) intravenosa; paralytico em 15 minutos; morre durante a noite.

Exp. 262 — Coelho de 915 gr. rec. 0,250 mg. (0,03 gl.) intravenosa; quasi nenhum symptoma.

Exp. 266 — Coelho de 970 gr. rec. 0,625 mg. (0,75 gl.) intravenosa; fortemente paretico, 2 horas após a injecção, completamente cahido á tarde, grande diarrhéa durante a noite; um pouco melhor no dia seguinte, restabelecido em 4 dias.

Exp. 269 — Cobaio de 300 gr. recebe 0,6 mg.; morre durante a noite.

Veneno de Nephila cruentata

Exp. 380 — Coelho branco, 209, rec. 7,5 mg. em 0 c,5 de soro physiologico em injecção intradermica na orelha; no dia seguinte forte edema local, sem eschara, desapparecendo em 48 horas.

Exp. 381 — Coelho branco 107, rec. 15 mg. em 1cc. no mesmo ponto; no dia seguinte, edema forte e grande echymose, nas duas faces da orelha; 48 horas depois da injecção grande eschara de 2c. de comprimento, visivel na face inferior, cahindo dois dias depois, produzindo larga perfuração da orelha.

As minimas mortaes com veneno puro e secco são, portanto, as seguintes:

Ctenus nigriventer: Coelho de 1 kilog., 0,3 mmg. por via venosa.
Coelho de 1 kilog., 1 mmg. por via intram.
Coelho de 1 kilog., um pouco acima de 1 mmg. por via intradermica.
Cobaio de 300 grs., 0,3 mmg. por via intramuscular.
Pombo 1 mmg. por via venosa.

Peso medio do veneno de 1 glandula = 1,25 mmg.

Ctenus ferus: Coelho de 1 kilog., 0,4 mmg. por via venosa.
Cobaio de 300 grs., 0,25 mmg. por via intramuscular.
Rato de 100 grs., 0,4 mmg. por via intramuscular.
Camondongo de 25 grs., 0,04 mmg. por via intramuscular.
Pombo, 1,45 mmg. por via venosa.

Peso medio do veneno de 1 glandula — 2,16 mmg.

Trechona venosa: Pombo, 0,025 mmg. por via venosa.
Coelho de 1 kilog., um pouco superior a 0,628 mmg.
Cobaia de 300 grs., 0,6 mmg. por via intramuscular.

Peso medio do veneno de uma glandula — 1,25 mmg.

Nephila cruentata: Por injecção intradermica, na orelha do coelho, 15 mmg. provocam, em 48 h., uma larga eschara e perfuração da orelha.

CAPITULO II

PODER HEMOLYTICO

Pesquizamos o poder hemolytico dos venenos de *Ctenus ferus*, *Ctenus medius*, *Enoploctenus germanii* e *Heteropodia venatoria* e *Nephila cruentata*; os 3 primeiros exclusivamente neurotoxicos, os 2 outros agindo sobretudo localmente. (*)

Todos se mostraram desprovidos de acção hemolytica.

As glandulas de cada especie separadas das cheliceras e lavadas foram trituradas separadamente em um gral depois da addicção do serum physiologico e a solução obtida, filtrada em papel.

De cada veneno preparou-se 3 soluções: Solução A — 5 gl. por 1 cc; Solução B — gl 0,5 por 1 cc. — Solução C — 0,05 por 1 cc.

Os globulos empregados foram os de coelho em suspensão a 5 por 100; juntou-se a cada tubo 0cc,2 de soro de cavallo inactivado, por aquecimento de 20 minutos a 58°.

Cada reacção comporta 5 tubos.

T. 1 — Sol. A — 0cc,1 (0,5 gl.) mais 0cc,2 soro cavallo mais 0cc,7 ser. phys.

(*) Posteriormente estudando os venenos de Grammostola acteon (Pocock), Acanthoscuria sternalis (Pocock), Selenops Spixii (Perty), Ctenus nigriventer (Keys), Heteropoda venatoria (L.), Polybetes maculatus (Keys), Neosconella volucripes (Keys), Trechona venosa (Latr.), Enoploctenus germanii (Simon), Lycosa raptoria, (Walck), Corinna nitens (Keys), verificamos que os venenos de Acanthoscuria sternalis, Selenops spixii, Polybetes maculatus, Neosconella volucripes, Trechona venosa, Lycosa Raptoria e Corinna nitens, possuem uma acção hemolytica muito fraca (ligeiro traço de hemolyse depois de 24 horas na estufa a 37°; todos são desprovidas de acção proteolytica ou coagulante.

T. 2 — Sol. B — 0cc,1 (0,05 gl.) mais 0cc,2 soro cavallo mais 0cc,7 ser. phys.
T. 3 — Sol. C — 0cc,1 (0,005 gl.) mais 0cc,2 soro cavallo mais 0cc,7 ser. phys.
T. 4 — Testemunha — 0cc,2 serum cavallo mais 0cc. 8 soro physiologico.
T. 5 — Testemunha — 0cc,1 sol. B (0,05 gl.) mais 0cc,9 soro physiologico.

A cada tubo junta-se 1 cc. de hematias de coelho.

Nenhum signal de hemolyse em nenhum dos tubos depois de uma permanencia de 6 horas na estufa a 37°.

As soluções em agua de cal não podem ser empregadas para estas pesquizas porque esta hemolysa os globulos. 1 cc. de agua de cal mais 1 cc. globulos em contacto 1 hora na estufa a 37° — hemolyse total.

CAPITULO III

PODER COAGULANTE

Sob o ponto de vista da acção coagulante, os venenos da *Ctenus ferus* e da *Nephila cruentata*, foram os unicos estudados sobre o plasma citratado com o emprego de soluções preparadas com *trituratus* de glandulas.

Nem um nem outro d'estes venenos revelou qualquer acção coagulante.

Soluções frescas em soro physiologico: 1 cc. da solução de Ctenus corresponde a 10 glandulas. 1 cc. da solução de Nephila corresponde a 7 glandulas. O plasma empregado foi o de carneiro, citratado a 2 %.

Para cada reacção, foram tomados quatro tubos:
T. 1 — 2cc. de plasma mais 0cc,1 da sol. de veneno.
T. 2 — 2cc. de plasma mais 0cc,2 da sol. de veneno.
T. 3 — 2cc. de plasma mais 0cc,3 da sol. de veneno.
T. 4 — Testemunha — 2cc. de plasma.

15 minutos depois da juncção do veneno ao plasma, nenhum traço de coagulação foi observado.

CAPITULO IV

PODER PROTEOLYTICO

Nem o veneno de Ctenus ferus, nem o da *Nephila cruentata*, possue acção proteolytica sobre a gelatina. N'uma primeira serie de experiencias foram utilisadas as mesmas soluções de veneno, que

haviam sido empregadas nas pesquizas da acção coagulante, e a gelatina a 20 %, mentholada a 2 %. N'uma segunda serie, com duas novas soluções de veneno da mesma dosagem das precedentes, foi ensaiada a acção protelytica sobre a gelatina a 20 %, sem addicção de menthol ou thymol.

Para cada veneno foram empregados quatro tubos, cada tubo com 2 cc. de gelatina e doses crescentes de veneno e um tubo testemunha, sem veneno. Depois de duas horas de observação, na temperatura ambiente, os tubos não tendo apresentado traço algum de digestão, foram collocados duas horas na estufa a 37° e depois deixados, durante a noite na geleira; para facilitar a leitura.

Em todos os casos o resultado foi negativo.

Ctenus ferus	Proteolyse
T. 1 — 2 cc. de gelatina mais 0cc,1 sol. de veneno	0
T. 2 — 2 cc. » » » 0cc,1 » »	0
T. 3 — 2 cc. » » » 0cc,1 » »	0
T. 3 — 2 cc. » » » 0cc,1 » » »	0
T. 4 — 2 cc. » » » testemunha	0

Nephila cruentata	Preteolyse
T. 1 — 2 cc. de gelatina mais 0cc,1 de sol. de veneno	0
T. 2 — 2 cc. » » » 0cc,2 » » »	0
T. 3 — 2 cc. » » » 0cc,3 » » »	0
T. 4 — 2 cc. » » » 0cc,4 » » »	0
T. 5 — 2 cc. » » » 0cc,5 » » »	0
T. 6 — 2 cc. » » testemunha	0

Reacção da gelatina — neutra. Reacção das soluções de veneno — fracamente alcalina.

CAPITULO V

FORMAÇÃO DE ANTI-CORPOS

Os nossos primeiros ensaios de immunisação com veneno de aranha, foram feitos, em um carneiro, tendo empregado as soluções de veneno de *Ctenus ferus* em agua de cal. Si bem que n'estas primeiras tentativas, não tivessemos, por falta de material, proseguido, por largo tempo, o tratamento do animal immunisado, conseguimos, comtudo, chegar a resultado concludente. A injecção de doses crescentes de veneno provocou a formação de anti-corpos, permittindo obter um soro capaz de neutralizar quantidade apreciavel de veneno.

a) Immunisação

Seguindo o methodo de injecção diaria de pequenas doses iniciaes, progressivamente crescentes, injectamos, em duas semanas 85 glandulas de *Ctenus ferus* e *Ctenus medius* (solução glycerinada), sem notar reacção local, nem perturbações geraes. As injecções, subcutaneas, na face interna da coxa, foram bem supportadas, produzindo dor fraca e de curta duração. A solução de veneno utilisada dosava 2 gl. 8 por centimetro cubico e as doses inferiores a 2 cc. eram completadas com soro physiologico para este volume.

Protocolo

1.º	dia	0cc,05	=	0,14 gl.	8.º	dia	3cc,2	=	8,96 gl.
2.º	»	0cc,1	=	0,28 gl.	9.º	»	4cc.	=	11,2 gl.
3.º	»	0cc,2	=	0,56 gl.	10.º	»	5cc.	=	14 gl.
4.º	»	0cc,4	=	1,12 gl.	11.º	»	4cc.	=	11 gl.
5.º	»	0cc,8	=	2,24 gl.	12.º	»	5cc.	=	14 gl.
6.º	»	1cc,6	=	4,48 gl.	13.º	»	6cc.	=	16,8 gl.
7.º	»	repouso			14.º	»	repouso		

84 gl., 98, do dia 9 ao dia 22 de Junho.

b) Dosagem do soro

Quatro dias depois da ultima injecção, o carneiro foi sangrado, tendo preparado uma certa quantidade de soro, cuja actividade foi avaliada pelo methodo seguinte:

1.ª Serie — Soro recentemente preparado e não phenicado. Solução de veneno preparada no momento de ser usada.

Exp. 48 — Testemunha: Camondongo de 14,5 gr., recebe por injecção intramuscular, 0,3 gl. mais 0cc,4 de agua de cal. Morte em 1 hora e 23 minutos.

Exp. 49 — Camondongo de 12,9 gr. recebe por injecção intramuscular 0,3 gl. mais 0cc,1 de soro a dosar. Mistura no momento da injecção. Paralytico em 6 horas; morte em 48 horas.

Exp. 50 — Camondongo de 12 gr. recebe 0,6 gl. mais 0cc,3 de soro. Convulsões em 12 minutos e morte em 15 minutos.

Exp. 51 — Testemunha: Camondongo de 16,5 gr. recebe por injecção intramuscular 0,15 gl. mais 0cc,5 de soro physiologico; excitação forte seguida de paresia; quasi completamente paralytico na manhã seguinte, restabelecendo-se lentamente em mais de 72 horas.

Exp. 52 — Camondongo de 15 gr. recebe 0,15 gl. mais 0cc,5 do soro a dosar; excitação seguida de paresia menos accentuada do que o testemunha. Na manhã seguinte a differença entre os dois é notavel á primeira vista. Ainda que menos activo, não apresenta paralysia, mas caimbras localisadas e intermittentes. Completamente restabelecido em 48 horas.

2.ª Serie — **Soro phenicado** — Outra solução de veneno muito activa, glycerinada a 8 dias.

Exp. 56 — Testemunha: Camondongo de 19,3 gr. recebe 0,3 gl. mais 0cc,5 de soro physiologico, deixa-los uma hora de contacto, na estufa a 37°. Morte em 30 minutos.

Exp. 58 — Camondongo de 19,5 gr. recebe 0,3 gl. mais 0cc,5 do soro a dosar. Contacto durante uma hora na estufa a 37°. Morte em 17 minutos.

Exp. 59 — Testemunha: Camondongo de 20,5 gr. recebe 0,2 gl. mais 0cc,4 de soro physiologico. Morte em 2 horas.

Exp. 60 — Camondongo de 18 gr. recebe 0,2 gl. mais 0cc,4 de soro a dosar. Injecção logo após a mistura. Somnolencia, paresia, salivação; não completamente normal no dia seguinte. Restabelecido em 18 horas.

Exp. 61 — Camondongo de 17,5 gr. recebe 0,2 gl. mais 0cc,4 do soro a dosar. Contacto na estufa a 37°, durante uma hora; symptomas identicos aos da experiencia anterior. Restabelecimento completo em 18 horas.

Apezar do curto tempo de immunisação, o soro obtido revela-se dotado de propriedades anti-toxicas assaz apreciaveis, neutralisando uma minima mortal e consequentemente demonstrando a possibilidade de conseguir-se soros sufficientemente activos contra o veneno araneico.

CAPITULO VI

SORO DAS ARANHAS

Já vimos anteriormente (*) que a addicção de pequena quantidade de soro sanguineo de aranhas ao veneno, não exerce influencia alguma sobre a marcha do envenenamento; por outro lado, numerosos autores tem estudado as propriedades toxicas do sangue, acreditando encontrar n'este os principios do proprio veneno (Kobert) ou assignalando a existencia de toxinas de natureza completamente differente (Walbum).

Resolvemos, pois, examinar esta questão, referindo algumas das nossas experiencias sobre a toxicidade do soro de *Ctenus ferus*, da *Nephila cruentata*, e da *Trechona venosa*, sufficientes para demonstrar a natureza completamente differente do veneno e do soro das aranhas.

O soro não é toxico senão em altas doses; não existe relação alguma entre a actividade de um e a de outro. Assim o soro de *Nephila cruentata*, cujo veneno é quasi completamente destituido de acção geral, é quasi duas vezes mais activo do que o soro de *Ctenus ferus* e do *Trechona venosa*, que possuem venenos neuro-toxicos extremamente activos. Os symptomas de intoxicação, pelo soro são completamente diversos dos observados pela acção do veneno da aranha, emquanto que são identicos para o soro das tres especies referidas.

O pombo é o animal sensivel por excellencia, emquanto que o camondongo se revela muito resistente. Não conseguimos matar animal algum por via intramuscular, mas exclusivamente por via venosa. Eis a technica que empregamos:

(*) Parte geral — Cap. V.



O sangue é colhido com pipettas, depois do arrancamento das cheliceras, por occasião da extracção das glandulas de veneno. É um liquido de um ligeiro tom de cinza, de reacção frequente alcalina, algumas vezes neutra e raramente acida. Deixado em repouso coagula, separando-se o soro com finos flocos de fibrina em suspensão.

A quantidade de sangue que se pode obter de um exemplar de aranha é extremamente variavel, podendo ir de alguns decimos de centimetro cubico a quasi 2 cc. Empregamos em nossas experiencias exclusivamente o soro, depois da separação do deposito fibrinoso.

a) Soro da Ctenus ferus

Exp. 63 — Camondongo recebe 0cc.5 de soro na coxa. Foram observados ligeiros symptomas geraes, sem reacção alguma no ponto de injecção.

Exp. 117 — Pombo recebe 0cc,5 de soro por injecção endovenosa. Cahe immediatamente paralytico, apresenta tosse, movimentos respiratorios muito diminuidos. Morre em 10 minutos, sem ter apresentado caimbras ou contracturas.

b) Soro de Nephila cruentata

Exp. 134 — Pombo recebe 0cc,5 do soro, por injecção endovenosa. Violenta agitação da cabeça, debate-se ligeiramente e morre em 1 minuto, sem contractura.

Exp. 135 — Pombo recebe, por injecção endovenosa, 0cc,2 do soro mais 0cc,3 de soro physiologico às 10 horas e 45 minutos. Fica a principio immovel, depois estende convulsivamente o pescoço para frente, fazendo violentos movimentos para vomitar: apoia-se pouco a pouco sobre o tarso, cahe e morre durante a noite, sem ter apresentado convulsões.

c) Soro de Trechona venosa

Exp. 94 — Pombo recebe 0cc,5 do soro por injecção endovenosa. Fica a principio immovel, depois cahe gradualmente e depois de debater-se ligeiramente, fica paralytico. Dyspnêa intensa, tremores generalisados. Morre em 8 minutos, sem contractura.

Exp. 96 — Pombo rec. 0cc,3 do soro mais 0cc,2 de soro physiologico. Immobilisa-se a principio, notando-se ao cabo de 20 minutos que o animal tem difficuldade de manter-se sobre as patas. Cahe, mas levanta-se dentro de pouco tempo, não apresentando ao cabo de uma hora, senão ligeira somnolencia.

Exp. 96 — Pombo recebe 0cc.1 do soro mais 0cc,4 de soro physiologico. Symptomas inteiramente semelhantes aos da experiencia precedente. Restabelecimento no mesmo tempo.

Exp. 145 — Pombo recebe por injecção intramuscular 0cc.5 do soro. Observa-se apenas um pouco de somnolencia, que desapparece ao fim de 4 horas.

Exp. 97 — Camondongo recebe 0cc,2 do soro mais 0cc,3 de soro physiologico, por injecção intramuscular. Não apresentou symptoma algum de envenenamento.

Exp. 115 — Camondongo recebe 0cc,2 do soro mais 0cc,3 de soro physiologico, em uma das veias da cauda. Ligeira somnolencia e restabelecimento dentro de 3 horas.

As injecções de soro de aranhas em dose não mortal, parecem não exercer influencia alguma protectora ou preventiva contra o proprio veneno. Alem das experiencias referidas na parte geral, fizemos mais as seguintes com o veneno de *Trechona*.

Exp. 101 — Testemunha: Pombo recebe 0cc,5 de gl. por injecção intramuscular. Morte em 45 minutos.

Exp. 102 — Pombo da experiencia 96, tendo recebido na vespera 0cc,1 do soro, recebe 24 horas depois, 0,5 gl. nos musculos peitoraes. Morre em 55 minutos.

A mistura de soro e veneno, na unica experiencia realisada, com uma dose mortal de soro addicionada de uma dose mortal de veneno, matou o pombo mais rapidamente do que o veneno puro e mais lentamente do que o soro só.

Exp. 103 — Pombo da experiencia 97, tendo recebido na vespera 0cc,3 do soro, recebe 0,1 de gl. nos musculos peitoraes. Morte em 65 minutos.

Exp. 89 — Testemunha: Pombo recebe, por injecção endovenosa 0,05 de gl. Morte em 1 hora e 14 minutos.

Exp. 90 — Pombo recebe 0,05 de gl. mais 0cc,5 de soro. Morte em 35 min.

CAPITULO VII

ACÇÃO NEUTRALISANTE DOS SOROS ANTI-PEÇONHENTOS E DO SORO ANTI-ESCORPIONICO

Os differentes soros anti-peçonhentos, mostraram-se quasi inactivos contra o veneno das aranhas. Apenas o soro anti-bothropico retardou ligeiramente a morte e n'um caso mesmo a impediu, si bem que o animal tivesse apresentado symptomas muito graves. Operamos, quer deixando em contacto, *in vitro*, as misturas de soro e veneno, durante uma hora, na estufa a 37°, quer fazendo injecção immediata das misturas.

Com o primeiro procedimento os resultados foram mais demonstrativos.

Soro anti-bothropico

Veneno de **Ctenus ferus**

Exp. 29 — Testemunha: Camondongo de 18,5 gr. recebe 0,3 gl. por injecção intramuscular; morte em 32 minutos.

Exp. 30 — Camondongo de 20 gr. recebe 0,3 gl. mais 0cc,5 de soro anti-bothropico, deixados em contacto durante 5 minutos. Morte em 3 horas e 55 min.

Veneno de **Trechona venosa**

Exp. 182 — Testemunha: Pombo recebe 0,06 gl. por injecção intramuscular. Cahe paralytico em 5 horas e morre durante a noite.

Exp. 183 — Pombo recebe 0,06 gl. mais 1cc. de soro anti-bothropico em injecção intramuscular; symptomas immediatos, menos accentuados do que no testemunha; cahe 5 horas depois. Forte diarrhéa na manhã seguinte; paralytico no segundo dia, começando a se restabelecer no 4.° dia.

Soro anti-crotalico

Exp. 146 — Testemunha: Pombo recebe 0,05 gl. de Trechona venosa, por injecção endovenosa. Morte em 31 minutos.

Exp. 148 — Pombo (novo, menor do que o testemunha) recebe, por injecção endovenosa, 0,05 gl. mais 1cc. de soro anti-crotalico, depois de 5 minutos de contacto. Morte em 21 minutos.

Exp. 149 — Pombo recebe, por injecção endovenosa 0,05 gl. mais 1cc. de soro anti-crotalico, depois de uma hora de contacto a 37°. Morre em 48 minutos.

Soro anti-escorpionico

Exp. 177 — Testemunha: Pombo recebe 0,15 gl. de Trechona venosa, por injecção intramuscular. Paralytico em 10 minutos e morto em 1 hora e 19 min.

Exp. 180 — Pombo recebe, por injecção intramuscular 0,15 gl. mais 1cc. de soro anti-escorpionico, depois de 1 hora de contacto. Morte em 2 horas e 27 minutos.

Exp. 181 — Pombo recebe por injecção intramuscular 0,06 gl. mais 1cc. de soro anti-escorpionico; cahe quasi que em seguida, completamente paralytico ás 5 horas e morto durante a noite. (Soro anti-escorpionico n.° 1 do Instituto de Butantan, muito fraco, dosando apenas 2 gl. por cc.).

CAPITULO VIII

RESISTENCIA DOS VENENOS ARANEICOS Á ACÇÃO DOS AGENTES PHYSICO-CHIMICOS

a) Agentes physicos

Já vimos que as soluções de veneno se conservam bem em temperatura de 4° abaixo de zero, assim como se conservam activos, quando dessecadas na estufa a 37°.

Estudaremos em seguida a influencia de temperaturas mais elevadas sobre as soluções de veneno e ponto em que são completamente inactivadas. Houssay estudando esta questão obteve soluções completamente inactivas aquecendo-as durante 30 minutos a 70° (soluções fracas de veneno de theraphosidae, em soro physiologico, permittindo matar, quando muito camondongos . Em nossas experiencias verificamos que os venenos se attenuam gradualmente, á medida que a temperatura se eleva, sendo completamente destruidos ao nivel de 100°. A dose minima mortal já attenuada a 65° deixada 15 minutos a 70° não provoca senão ligeiros symptomas, o que confirma os resultados de Houssay, por operar-se como este experimentador com doses fracas, pouco superiores á minima mortal.

Empregando-se, porem, uma dose duas vezes mais forte de veneno, não se consegue destruil-o pelo aquecimento a 75°, pelo mesmo lapso de tempo. Com o veneno de Trechona attenuado pelo calor pode-se observar ao contrario do que se dá com o veneno fresco,

symptomas mais ou menos graves, sem, comtudo, chegar á morte. Á medida que se utilisa temperaturas mais elevadas, a minima mortal se eleva progressivamente.

O tempo de aquecimento, entretanto, acima de 15 minutos, parece não exercer influencia alguma sobre os resultados. As soluções de venenos que empregamos eram preparadas com o conjuncto de glandulas e cheliceras de sorte que a partir do aquecimento a 70° se formava um coagulo. Para evitar que uma parte do veneno fosse retida por este, procuravamos homogenisar as soluções, por occasião das injecções, tendo tido, entretanto, occasião de verificar que o mesmo liquido que sobrenada independente do coagulo é por si mesmo toxico.

Veneno de **Trechona venosa**

1.ª Serie de experiencias — Solução de veneno fraca preparada com exemplares muito novos. Dose de veneno a mesma, temperatura variavel.

Exp. 105 — Testemunha: Pombo recebe 0,1 gl. por injecção endovenosa Cahe em 7 minutos, paralytico em 1 hora. Morte á noite em menos de 18 horas.

Exp. 106 — Pombo recebe por injecção endovenosa 0.1 gl. aquecido por 60° durante 15 minutos. Cahe em 12 minutos, paralytico em 1 hora; morte á noite, ao mesmo tempo que o testemunha.

Exp. 107 — Pombo recebe por injecção endovenosa 0,1 gl., aquecimento durante 15 minutos a 65°. Cahe em 21 minutos, paralytico em 2 horas, morto em mais de 20 horas.

Exp. 108 — Pombo recebe 0,1 gl. intramuscular; aquecimento durante 15 minutos a 80°. Ligeira paralysia das patas, salivação. Restabelece-se em 24 horas

2.ª Serie de experiencias — Solução glycerinada de actividade media. Todas as injecções são feitas nos musculos peitoraes. Quantidades de veneno e temperatura variaveis.

Exp. 109 — Testemunha: Pombo recebe 0,1 gl. por injecção intramuscular. Morte em 1 hora e 55 minutos.

Exp. 110 — Pombo recebe 0,1 gl.; aquecimento durante 15 minutos a 70° Paralysia ligeira das patas, salivação; restabelecimento em 24 horas.

Exp. 111 — Pombo recebe 0,2 gl.; aquecimento durante 15 minutos a 75° Caimbra immediata, difficuldade de se manter em pé, paralytico em 20 horas, diarrhéa abundante, morte em 98 horas.

Exp. 112 — Pombo recebe 0,1 gl.; aquecimento durante 15 minutos a 75°. Morre durante a noite.

Exp. 113 — Pombo recebe 0,1 gl.; aquecimento a 90°, durante 15 minutos Salivação, caimbras das azas, ligeira paralysia das patas, restabelecimento em mais de 24 horas.

Exp. 114 — Pombo recebe 0,8 gl.; aquecimento a 90°, durante 15 minutos Symptomas muito accusados, agitação convulsiva, caimbras muito fortes, incapacidade de se manter sobre as patas, uma hora depois da injecção; ligeira melhora em 24 horas e restabelecimento em 48 horas.

Exp. 116 — Pombo recebe 2 gl., depois de aquecimento a 100°, durante 15 minutos. Symptomas quasi nullos.

Veneno de **Ctenus ferus**

Exp. 158 — Testemunha: Camondongo de 175 gr.; recebe por injecção intramuscular 0,3 gl.; uma minima mortal. Morte em 1 hora e 50 minutos.

Exp. 159 — Camondongo sensivelmente do mesmo peso que o precedente, recebe por injecção intramuscular 1.2 gl., 4 minimas mortaes. Aquecimento a 75° durante 15 minutos. Symptomas muito graves durante 5 horas: salivação, paralysia do trem posterior quasi completa, tremores, espasmos nervosos. Restabelecimento em mais de 24 horas.

Exp. 160 — Camondongo igual aos 2 primeiros, recebe por injecção intramuscular, 2,2 gl., 7 minimas mortaes. Aquecimento a 90° por 15 minutos. Symptomas ainda mais accentuados do que no de n.° 159. Salivação muito abundante, tremores violentos, quasi completamente paralytico em duas horas; 24 horas mais tarde persiste ainda accentuada paresia do trem posterior. Restabelecimento em 48 horas.

A attenuação com os 2 venenos ensaiados, é, pois, progressiva, começando a 65 até a destruição completa da acção toxica a 100.

b) Agentes chimicos

Estudamos a acção de differentes agentes chimicos sobre o veneno de Trechona venosa, tomando como prova das modificações, a acção sobre o pombo por via intramuscular. A mistura de veneno e do agente chimico era feita cinco minutos antes da injecção. Os melhores resultados foram os obtidos com a solução de permanganato de potassio a 1 %, que foi unica que se mostrou capaz de impedir a morte, sem comtudo supprimir o apparecimento de graves symptomas. Em segundo lugar esteve a solução decinormal de soda, que deu longa sobrevivencia e em terceiro o ammoniaco em solução a 25 %. O hyposulfito de sodio a 50 %, o acido chromico, o ammoniaco em solução a 1 % são muito pouco activos.

1.ª Serie — Exp. 161 — Testemunha: Pombo recebe 0,2 gl.; paralytico em 1 hora, morto em 2 horas.

Exp. 163 — Pombo recebe 0,2 gl. mais 2cc., da sol. de acido chromico. Paralytico em 2 horas e 50 minutos; morto em 4 horas e 55 minutos.

Exp. 164 — Pombo recebe 0,2 gl. mais 1cc. a 1 % de ammoniaco. Paralytico a 1 hora e 10 minutos. Morto em 2 horas e 5 minutos.

Exp. 165 — Pombo recebe 0,2 gl. mais 1cc. a 25 % de ammoniaco. Paralytico em 3 horas, morto durante a noite.

Exp. 166 — Pombo recebe 0,2 gl. mais 1cc. de sol. Na OH deci-normal. Paralytico em 3 horas e 30 minutos. Morto em 50 horas.

Exp. 167 — Pombo recebe 0,2 gl. mais 1cc. de solução a 1 % de permanganato de potassio; 1.ª crise de tetania ás 2 horas e 30 minutos. Melhor na manhã seguinte; restabelecido em 48 horas.

2.ª Serie — Exp. 177 — Testemunha: Pombo recebe 0,15 gl. Paralytico em 40 minutos, morto em 1 hora e 19 minutos.

Exp. 179 — Pombo recebe 0,15 gl. mais 0cc,1 de hyposulfito de sodio, solução a 50 %. Morre em 4 horas e 28 minutos.

Exp. 181 — Pombo recebe 0,15 gl. mais 0cc,5 de hyposulfito de sodio, sol. a 50 %. Morre em 5 horas.

Não nos foi possivel ensaiar a acção da agua oxygenada, porquanto verificamos que a injecção intramuscular de 1cc. d'este producto mata rapidamente o pombo.

CAPITULO IX

VENENO DA LYCOSA RAPTORIA, Walckenaer

Aranha de tamanho medio, medindo a femea de 15 a 30 millimetros; o macho um pouco menor, de côr pardacenta no dorso, com uma faixa esbranquiçada no cephalo-thorax, e uma outra na parte antero dorsal do abdomen, de côr escura, continuada posteriormente, por algumas linhas transversaes. A côr geral é um tanto variavel, podendo ir do pardo claro ao pardo muito escuro, quasi negro, havendo alguns exemplares que apresentam a face dorsal do abdomen de um pardo amarello ou avermelhado. A face ventral apresenta-se sempre de côr escura. A formula occular é 4 + 2 + 2. O apparelho genital da femea é formado por uma placa basal ovoide, truncada na parte posterior, escavada na parte mediana em duas depressões reniformes, orientadas no sentido antero-posterior, separadas por um septo mediano em forma de T invertido, ligeiramente espessado na parte mediana. O palpo do macho é pequeno, cobrindo um bulbo simples, sem espinhos ou apophysis.

Esta especie encontra-se com mais frequencia, na zona temperada e fria. Habita as casas velhas, jardins e em outros lugares, onde acha alimentação facil, preferindo os terrenos seccos. Vive em baixo de pedras, de paus podres, em buracos de barrancos, etc.

A fecundação não foi observada. O cocon completamente redondo, é carregado pela aranha, que o traz collado ás fiandeiras. Os filhotes, logo depois de nascidos são carregados no dorso pela femea.

Accidentes determinados por esta especie

O estudo d'este veneno é importante na pratica, pois, numerosos accidentes mais ou menos graves lhe devem ser attribuidos.

Observamos pessoalmente diversos casos de araneismo em São Paulo, assim como obtivemos de diversos collegas preciosas observações sobre os accidentes locaes determinados pelas aranhas nesta capital e em seus arredores. A symptomatologia de todos esses casos é bastante uniforme, para nos levar a acreditar que fossem determinados pela mesma especie de aranha. O doente sente, no momento da picada, uma dor assaz viva, mas passageira; pouco a pouco o membro ferido começa a tumefazer-se, ao mesmo tempo que a dor volta lancinante; no dia seguinte nota-se um edema consideravel, com suffusão sanguinea, em cujo centro se distingue o logar da picada, pela presença de uma pequena eschara; não ha, em via de regra, hyperthermia; por vezes observa-se urticaria generalisada, mas sem reacções ganglionaes; o estado geral é, em via de regra bom; nos dias seguintes o edema se estende ainda mais,

podendo occupar todo o membro, acompanhado algumas vezes de phlyctenas; pouco a pouco a eschara augmenta, um sulco de eliminação se forma e uma placa de tecido necrosado, muitas vezes consideravel, se elimina; a cura é lenta, a cicatriz indelevel e frequentemente retratil e dolorosa. Nos casos mais benignos, attribuiveis talvez a outras especies, nota-se uma tumefação passageira, que pode ser acompanhada de urticaria.

Quando os pacientes vêm a aranha determinadora do accidente descrevem-n'a de tamanho medio, cor de cinza ou cinzento escuro. A paciente a que se refere um caso observado pelo Prof. Kraus e pelo Dr. Rocha Botelho, se propoz a nos enviar alguns exemplares de aranha que a havia picado; eram de *Lycosa raptoria*. Fomos, assim, levados a pensar que, sendo esta especie a mais commum nas velhas casas, e nos jardins da capital e dos seus arrabaldes, fosse realmente a responsavel por estes accidentes.

Estudo experimental

Para verificar experimentalmente este facto, retiramos, segundo a technica já indicada, as glandulas de diversos exemplares de Lycosa raptoria e depois de tritural-as com areia fina esterilisada, tratamol-as por agua de cal, filtrando o todo. As soluções assim preparadas foram injectadas em diversos animaes de laboratorio, quer por via venosa, quer por via hypodermica, quer por via intramuscular.

A despeito de havermos empregado doses assaz elevadas, os resultados foram bem mediocres. Por via venosa foi necessario exaggerar-se enormemente as doses, para conseguir-se matar o animal em experiencia; por via hypodermica ou intramuscular, contra a nossa espectativa, não tivemos senão fraquissima reacção local. Modificamos a nossa technica empregando o soro physiologico como vehiculo, ao em vez da agua de cal; isso, porem, sem melhor resultado. Afim de nos approximar o mais possivel das condições naturaes, em que se verificam os accidentes de araneismo, nas quaes, em virtude da exiguidade dos ferrões e da rapidez do ataque, o derma é exclusivamente interessado, praticamos, no cobaio, varias injecções intradermicas, provocando reacções mais ou menos accentuadas, sem, todavia, chegar á necrose.

Foi, então, que desconfiando que a diluição de nossas soluções fosse talvez a causa destes insuccessos, separamos um certo numero de glandulas frescas de Lycosa e procuramos obter o veneno puro por compressão directa das glandulas, servindo-nos, para isso, de um pequeno bastão de vidro. Para facilitar a injecção, juntamos ao veneno puro, duas ou tres gottas de glycerina. Um decimo de centimetro cubico deste liquido injectado no derma de um cobaio, determinou em 24 horas, uma larga eschara e tumefação de toda a região, sendo de aspecto identico ás observadas ordinariamente nos accidentes naturaes. O veneno applicado directamente sobre a pelle escharificada, não determina lesões tão caracteristicas, como as que são observadas por injecção intradermica.

A *Lycosa raptoria* pode, pois, ser accusada, pelo menos, como responsavel pela maioria dos accidentes locaes observados entre nós, em consequencia de picadas de aranha.

A acção geral d'este veneno é fraquissima. Assim é que, por via venosa, no pombo, a dose elevada de $2\frac{1}{2}$ milligrammas, não determina symptomas de envenenamento. Na dose de 3 milligrammas fulmina este animal.

Immunisação

Estabelecendo o papel desempenhado por esta especie nos accidentes naturaes, pensamos, como era natural, em preparar um soro especifico contra este veneno. Uma primeira experiencia de immunisação levada a effeito no «Instituto Vital Brazil», em Niteroi, nos havia demonstrado a possibilidade de obter-se um soro activo contra os venenos de aranha.

Uma solução de veneno em agua de cal, glycerinado a 40 %, dosando seis glandulas por centimetro cubico, foi preparado e amadurecido durante um mez. Para animal de experiencia, tomamos, como da primeira vez, o carneiro.

A immunisação do carneiro *B* durou tres mezes; de 12 de Janeiro a 28 de Março, com injecções diarias, tendo-se começado com dose extremamente fraca e augmentando-se diariamente segundo uma progressão arithmetica, e de uma semana para outra, segundo uma progressão geometrica. No começo do processo de immunisação, tivemos de suspender as injecções por alguns dias em consequencia de apresentar-se o animal com diarrhéa. Retomadas depois do restabelecimento do animal, foram as injecções feitas, com a maior regularidade, durante todo o periodo da immunisação, sem modificação notavel do peso e da temperatura do animal. A dose inicial foi de 0,1 de glandula e a ultima dose de 140 glandulas.

Methodo de dosagem do soro anti-lycosico

Sendo de acção local intensa, ao lado de effeito geral nullo, o caracter principal do veneno de *Lycosa*, não seria logico empregar-se para dosagem do soro anti-lycosico, o mesmo methodo que empregamos para dosagem dos soros contra o veneno das serpentes, cuja acção geral é a dominante.

A diluição do veneno influindo sobre os phenomenos locaes dever-se-ia evitar a mistura de soro veneno, como empregamos nos outros methodos de dosagem. Procuramos, pois, estabelecer em primeiro logar as condições e a dose de veneno capazes de produzir, de modo seguro e constante, phenomenos locaes intensos acompanhados de necrose. Depois de varias experiencias fixamos a dose de 5 milligrammas de veneno secco, dissolvidas em 1 cc. de soro physiologico, como a mais conveniente. De facto, já na dose de 2 milligrammas de veneno secco, em 1 cc. de soro physiologico, este veneno determina, em 24 horas, a formação de uma eschara de um centimetro de diametro.

Uma outra consideração que nos levou a fixar em 5 milligrammas de veneno secco, a dose padrão para medida do soro, foi tomar uma dose seguramente superior á media, que podem fornecer as aranhas, podendo assim uniformisar nosso methodo de dosagem, de modo a empregal-o para todos os venenos de effeitos locaes.

Mesmo os maiores exemplares de *Lycosa raptoria* fornecem, em media, dois milligrammas de veneno, não excedendo a 4 milligrammas a quantidade que se pode obter das maiores aranhas que temos estudado; de sorte que, a dose de 5 milligrammas seria mais que sufficiente para nivelar possiveis differenças de capacidade glandular.

Verificamos então que o soro que haviamos preparado contra o veneno de Lycosa raptoria, impedia a acção necrotica d'este, quando injectado na veia do animal em experiencia. Podemos assim estabelecer como unidade anti-necrosante, a quantidade de soro capaz de impedir a acção necrosante do veneno, na dose de 5 milligrammas, quando injectada no derma do animal.

O numero de unidades anti-necrosantes era fornecido pela diluição do soro, como no caso da dosagem do soro anti-diphterico.

Como animal de experiencia tomamos o coelho, que se presta melhor que o cobaio ás injecções intradermicas, elegendo para ponto de inoculação a orelha, não só pela maior facilidade das injecções, como pela da leitura dos resultados.

Para a primeira dosagem tomamos quatro coelhos de cerca de 1 kilo e 200 grs. de peso. O primeiro coelho, servindo de testemunha recebeu 5 milligrammas de veneno secco de Lycosa, dissolvido em 1 cc. de soro physiologico, no derma da face superior de uma das orelhas; 3 horas depois a orelha tinha dobrado de volume na base; toda a face superior, violacea e quente, era séde de um edema consideravel; no dia seguinte, o centro d'este edema era marcado por uma placa branca de necrose, visivel na face inferior da orelha; nos dias seguintes o edema começou a diminuir, emquanto que se formava sobre as duas faces da orelha uma larga eschara, que se eliminou depois de muitos dias, deixando um grande orificio na orelha do coelho.

Um segundo coelho recebeu por via intradermica a mesma quantidade de veneno que o testemunha e immediatamente depois, por via venosa 1 cc. do soro a dosar.

Um terceiro coelho recebeu primeiro 1 cc. do soro por via endovenosa e uma hora depois a injecção intradermica do veneno.

Um quarto e ultimo coelho recebeu, primeiro veneno, por injecção intradermica e uma hora depois o soro sempre por via venosa.

Nos tres animaes tratados pelo soro, quer preventivamente, quer simultaneamente, quer posteriormente á injecção de veneno, os resultados foram semelhantes: 3 horas depois da injecção notara-se um edema moderado da orelha, a face superior muito vermelha era séde de uma leucocytose intensa e de abundante serosidade, que minava atravez do ponto de inoculação; na manhã seguinte o edema havia quasi desapparecido e não se notava traço algum de eschara; 48 horas depois, não persistia senão uma ligeira vermelhidão local, não houve accidente algum tardio. O soro injectado, por

via venosa, mesmo uma hora depois da inoculação do veneno, se mostrou capaz de impedir a acção necrosante d'este ultimo, reduzindo-a a simples phenomenos de defeza local, acompanhada de intensa leucocytose.

Estes primeiros resultados obtidos, nos levaram a procurar a verificar segundo o methodo indicado, a dosagem exacta do soro.

Foram assim preparadas duas diluições do soro: uma ao decimo e outra ao centesimo. Dois coelhos receberam, cada um 5 milligrammas do veneno no derma da orelha e 15 minutos depois, por via venosa 1 cc. respectivamente da primeira e da segunda diluições. Estes dois animaes não apresentaram senão uma ligeira reacção local, sem formação de eschara e sem necrose consecutiva.

A dosagem procurada estava, pois, superior a 100 unidades. Tomamos mais 2 coelhos, injectando em cada um d'elles, a dose de veneno no derma e respectivamente, na veia 1 cc. das diluições a 1 por 500 e a 1 por 1000. O que recebeu a 1 por 500 teve um edema bastante intenso, pouca serosidade e dois dias depois da injecção uma pequena placa de necrose, seguida de eschara muito limitada. O outro coelho que recebeu soro a 1 por 1000 apresentou forte edema, acompanhado de fraco corrimento seroso e de uma placa de necrose e eschara assaz extensa, si bem que menor da que foi observada no animal testemunha e não interessando senão a face superior da orelha.

Estas ultimas experiencias nos levaram a considerar a actividade do soro entre 100 e 500 unidades. Ensaiamol-o, pois, com 250 unidades. O coelho que nos serviu para esta verificação não apresentou, com effeito, senão uma reacção local fraca, acompanhada de intensa reacção leucocytaria e não apresentou formação alguma de eschara ou de placa necrotica.

O soro obtido é, pois, capaz de proteger contra a necrose, em uma diluição a 1 por 250, dosando assim, pelo menos duzentas e cincoenta unidades por centimetro cubico, dosagem esta por nós adoptada.

1.ª applicação do soro anti-lycosico no homem

Já estavam escriptas estas notas, quando fomos procurados em Butantan, por um homem, forte, de 40 annos de idade, pouco mais ou menos, de nacionalidade portugueza, negociante ambulante de leite, residente na estrada de Santo Amaro. Referio-nos elle haver sido picado por uma aranha escura, de tamanho medio, nas seguintes circumstancias:

Depois de haver vendido o leite pela manhã, regressava elle para casa, em seu pequeno vehiculo, onde collocara um cacho de bananas que havia comprado: uma aranha que se escondia muito provavelmente no cacho de bananas, sentindo-se encommodada com a trepidação do vehiculo, sahira do seu esconderijo e subira sem que o presentisse, pelas pernas até attingir-lhe o pescoço; n'esse ponto sentindo o contacto do repugnante arachnideo, instinctivamente lançara-lhe a mão e fôra por elle picado.

Duas horas depois do accidente apresentava-se o paciente em Butantan á procura de soccorro medico. Accusava dor intensa na região offendida, dor essa que se irradiava para a cabeça e para as espaduas; tinha o pescoço immobilisado pela defesa natural contra a dor e contra a reacção local n'esse momento bastante intensa.

Examinando-lhe a parte offendida encontramos forte erythema, acompanhado de edema muito pronunciado, na região intra-thyroidiana anterior, limitado por um espaço triangular com cerca de 5 centimetros da base ao vertice e em cujo centro conseguimos divisar um pequeno ferimento produzido pelo ferrão da aranha. O estado geral do paciente era bom; temperatura e pulso normaes. Só dor intensa e phenomenos locaes.

Pensamos, pois, tratar-se muito provavelmente de um accidente determinado pela Lycosa raptoria.

Era uma excellente opportunidade de ensaiar, pela primeira vez, no homem, o nosso soro anti-lycosico. Foi o que fizemos. Injectamos subcutaneamente no braço esquerdo do paciente 10 cc. de soro.

Mandamol-o para casa recommendando-lhe repouso. No dia seguinte, logo pela manhã, fomos visitar o nosso doente anciosos por verificar o effeito therapeutico do soro. Não encontramol-o mais em casa, pois o doente dormira bem a noite e sentindo-se bem, ao despertar, sahira para suas occupações diarias.

Tendo deixado recado, para que o doente nos procurasse, mais tarde, em Butantan, tivemos occasião de examinal-o algumas horas depois.

Os phenomenos locaes haviam regredido completamente, de sorte que apenas notava-se ligeira vermelhidão no logar da picada. Informou-nos o paciente que as dores continuaram ainda, por algumas horas, depois da injecção do soro, até que á noite tendo-se attenuado progressivamente, conseguira conciliar o somno e dormir profundamente.

CONTRIBUTION Á L'ÉTUDE DU VENIN DES ARAIGNÉES

PAR LES DRS.

VITAL BRAZIL
DIRECTEUR

J. VELLARD
ASSISTANT

(Planches 1-14)

SOMMAIRE

1 — Depuis l'antiquité, les accidents provoqués par les araignées sont connus en diverses régions; de nos jours ces notions se retrouvent chez les peuples les plus divers.

Au moyen âge, diverses affections nerveuses étaient confondues avec les cas d'aranéisme; *le tarentulisme ou tarentisme nerveux*, névrose encore existante en Abyssinie (*tigretier*) sévit sous forme épidémique en divers pays d'Europe, confondu avec le *tarentisme accidentel* dû à la piqûre d'une araignée; ces 2 affections différentes étaient attribuées par le peuple à la piqure d'une *Lycose*, quoique le tarentisme accidentel fut causé plus probablement par de petites araignées du genre *Latrodectus*, qui actuellement apparaissent encore périodiquement en grande abondance, en certaines régions, provoquant de nombreux accidents, parfois mortels. La littérature moderne, surtout en Amérique du Sud, contient de nombreuses observations d'aranéisme; au Brésil, à São Paulo et aux environs, ces cas sont fréquents, pouvant se rapporter à 2 types principaux, l'aranéisme nécrosant et l'aranéisme neurotoxique.

2 — L'étude expérimentale de l'araneisme a été essayée par divers auteurs; mais, par suite de la difficulté d'obtenir le venin en quantité suffisante, du peu d'uniformité des techniques employées et de l'identification souvent défectueuse des espèces étudiées, les résultats obtenus sont contradictoires, ne permettant pas en général de confirmer les données de la clinique.

3 — Dans le travail actuel destiné à orienter des recherches postérieures plus complètes, les Auteurs ont étudié le venin de 5 espèces différentes d'araignées, *Ctenus ferus*, Perty, *Ctenus nigriventer*, Keys., *Trechona venosa*, Latr., *Nephila cruentata*, Fabr., et *Lycosa raptoria*, Walck.

Par piqûre directe les résultats sont très variables, suivant les conditions de la piqûre, l'état de l'araignée, la température, etc.

Pour obvier á cet inconvenient et uniformiser leurs recherches, les auteurs ont préparé diverses solutions de venin. Les solutions,

par suite de la grande diluition des principes toxiques, fournissent en général des résultats un peu moins actifs que ceux obtenus par piqûre directe; avec le venin sec préparé en desséchant les glandes à l'étuve à 37° et en les traitant ensuite par du serum physiologique, les résultats se rapprochent davantage de ceux obtenus en condition naturelle.

4 — Le venin de Ctenus ferus et de Ctenus nigriventer sont très actifs, agissant exclusivement sur le système nerveux. Les doses minimas mortelles sont les suivantes.

Lapin d'1 kilog. par voie veineuse: Ct. ferus 0,4 mmg., Ct. nigriventer 0,3 mmg.

Pigeon par voie veineuse: Ct. ferus 1,45 mg., Ct. nigriventer 1 mg.

Cobaie de 350 gr.: par voie intramusculaire, Ct. ferus 0,25 mg., Ct. nigriventer 0,3 mg.

Les animaux meurent paralytiques, après de violentes convulsions.

Le venin de Trechona venosa est encore um venin neuro-toxique, des plus actifs, mais plus actifs pour le pigeon que pour le lapin:

Pigeon, par voie veineuse, 0,025 mg.

Lapin d'1 kilog par voie veineuse, 0,65 mg.

Le venin de *Nephila cruentata* est au contraire des précédents, un venin peu actif, d'action exclusivement locale et faible: pour étudier ce venin les Auteurs se servent d'injection intradermique dans l'oreille du lapin; 15 mg., dans 1 cc. de serum physiologique, furent nécessaire pour amener en 48 heures la formation d'une grande escharre et perforation de l'oreille.

Le venin de *Lycosa raptoria* est encore un venin d'action nécrosante locale mais très actif; c'est à cette espèce que doivent être attribués les accidents d'aranéisme nécrosant observés à São Paulo; à la suite de diverses tentatives les auteurs réussirent à reproduire par injection intradermique des accidents analogues à ceux observés dans la clinique; la concentration des solutions a une grande influence sur l'activité de ce venin.

Certains venins d'araignées, d'action neuro-toxique sont donc d'activité comparable à celle des venins ophidiques les plus actifs; d'autres moins dangereux ne produisent que des gangrènes locales plus ou moins étendues.

5 — Les venins d'araignées etudiés (plus de 20 espèces) sont presque tous dépourvus d'action hémolytique sur les hematies de lapin; seulement quelques venins ont produit une légère trace d'hémolyse après un séjour de 24 heures à l'étuve à 37°; tous les venins étudiés sont dépourvus d'action protéolytique ou coagulante.

6 — Il est possible d'obtenir un serum extrêmement actif contre les venins d'araignées. Dans une prémière tentative, le serum d'un mouton ayant reçu durant 2 semaines des injections quotidiennes de venin de Ctenus ferus neutralisait déjà une quantité apréciable de venin. Postérieurement les Auteurs obtinrent un serum très actif contre le venin de Lycosa raptoria (Injection quotidienne au mou-

ton de venin avec des doses croissantes suivant une progression arithmétique chaque jour, et géométrique chaque semaine), capable à 1 diluition de 1/250 et injectée dans la veine, d'empêcher la dose élevée de 5 mg. de venin dissoute dans 1 cc. de serum physiologique de produire la nécrose par injection intradermique (Nouveau procédé de dosage des Auteurs).

L'action de ce serum est strictement spécifique et ne protège pas contre le venin d'autres espéces; de même les autres serum anti venimeux, anti ophidiques ou anti-scorpioniques, sont sans action sur le venin d'araignées.

7 — Il est difficile d'étudier l'action neutralisante du serum sanguin des araignées vis à vis du propre venin; à dose faible 0cc,1 de serum est sans action sur le venin; une dose plus elevée (0cc,5) ce serum est fortement toxique.

Les symptômes provoqués par l'injection au pigeon de serum sanguin de diverses espèces d'araignées sont identiques, tandis que l'action du venin est variable avec chaque espéce; il n'y a pas, de relation entre l'activité de l'un et de l'autre.

8 — Les venins d'araignées sont trés résistants aux basses températures; soumis à l'action de la chaleur, ils commencent à s'atténuer à 65°, mais ne sont entiérement détruits qu'aux environs de 100°.

9 — Les venins d'araignées se montrèrent trés résistants aux divers agents chimiques employés pour les atténuer; les plus actifs sont le permanganate de potasse (solution á 1 %, qui, seul, a pu éviter la mort mais avec des symptômes accusés, après un contact de 5 minutes in vitro avec 1 dose de venin un peu supérieure à la minima mortelle), puis la solution décinormale de soude et l'ammoniaque à 25 %; l'hyposulfite de soude à 50 %, l'acide chromique, l'ammoniaque à 1 % sont très peu actifs.

10 — *En cas d'accidents par araignée, le traitement sérotherapique spécifique s'impose.*

Butantan, 1 de Junho de 1925.

BIBLIOGRAPHIA

1 — *Dr. C. Hart Merriam*, cité par Comstock in «The spider Book», page 359.
2 — *Barrow*, cité par Ozanam.
3 — *Luigi Totti* — 1794: Memoria sobre il Falangio venefico dell'agro Volteriano, in Atti dall'Acad. dei fisiocritia.
4 — *Marmochi* — 1800: Memoria sobre il Ragno rosso dell'agro Volteriano.
4-A — *Graells* (Dr.) Accidents provoqués en Catalogue par la Malmignathe. An. Soc. Ent. Fr. 1864 — T. III — pag. 26.
5 — *Olivier* — Encyclopedie méthodique; cité par Latreille, Hist. nat. Ar. et Inst. Vol. 7 — Pag. 138.
6 — *Hulse* — Bite of a spider on the glans penis, followed by violent syptoms recovery — Amer. Journ. of Med. sc. 24, pag. 69 — 1839.
7 — *Ozanam* — Étude sur le venin des Arachnides, son emploi en thérapeutique suivie d'une dissertation sur le tarentulisme et le tigretier. Paris, Bailliére — 1856.
8 — *Motschulsky et Becker* — Bull. de Moscow — 1855 — pag. 472.
9 — *Schtschensnowitsch* — St. Petersburger med. Wochenschr. — 1870 — pag. 54.
10 — *A. von Frantzius* — Vergiftete Wunden bei Tieren und Menschen durch den Biss der in Costarica vorkommenden Minirspinne (Mygale). Virchow's Arch. XLVII — Pag. 235 — 1869.
11 — *Holmberg* — Aracnidos argentinos, in «Annales de Agricultura» — 1876.
12 — *Weyemberg* — 1 cas mortel par la morsure d'une araignée de l'espèce appelée Segestria perfida — Bol. de la Academia de Ciencias exactas de Cordoba — 1876.
13 — *Dieu* — Traité de matière médicale et de thérapeutique.
14 — *Grube* — Uber den Biss einer giftigen Spinne in «Jahrb. dei schleschw. Gesellsch. für vat. Cultur» — 1878.
15 — *Dax* — Accidents causés par la morsure de l'araignée noire; in «Courrier médical» — 1881.
16 — *Guibert* — cité par Walbum.
17 — *C. L. Cremer* — In «Schmidts Jahrb.» Bd. 225 — Pag. 239, cité par Walbum.
18 — *E. Simon* — Sur l'araignée venimeuse de Bolivie «In An. Soc. Ent. Belgique» — 1886 — C. R. — Pag. CLXX.
19 — *Puga Borne* — Sobre la puesta del Latrodectus formidabilis

de Chile in Act. de la Soc. lin. du Chili — 1875 — Ellatrodectus formidabilis de Chile. ibd. de 1892 a 1896.
20 — *José Penna* — Com. Congrés Int. Am. Med. e Hyg. Bs. Aires — 1910.
21 — *Delio Aguilar* — Conferencia en el circulo medico argentino — 1901 — Etude sémiologique des accidents dus aux piqûres d'arachnides in Rev. Soc. Med. Argent. T. XVI — 1908.
22 — *R. Argerich* — Empozoñamento producido por los aracnidos — Tesis de Buenos Aires — 1908.
23 — *R. G. Burghi* — Aracnoidismo — Tesis de Buenos Aires — 1909.
24 — *S. Mazza et R. Argerich* — «Algo mas sobre el Aracnoidismo». In rev. del centro de Estudantes de med. Marzo. 1910 — Buenos Aires.
25 — *Americo del Piño* — Picaduras de Arañas ponzoñosas. Tesis de B. Aires — 1910.
26 — *Santiago Cerutti* — Aracnoidismo: Ann. Soc. rural Argent. — 1910 — Bol. San. militar — 1910 — Buenos Aires.
27 — *Cornelio Guzman* — Accidentes producidos por los insectos venenosos del Chile. in «An. de la Adm. san. y assist. publ.», Buenos Aires — 1910.
28 — *B. Sommer et N. Grecco* — Araneidisme — Revist. dermatologica de Buenos Aires — 1910.
29 — *S. Mazza et Salovicz* — Picaduras de serpientes y aracnoidismo in rev. del Jardin zoologico de Buenos Aires — 1907.
S. Mazza — Aracnoidismo in rev. del centr. de est. de med. de Buenos Aires — 1908.
30 — *Houssay B. A.* — Las hemolisinas de las arañas. ler. Congresso Nal. de Medicina 17 a 24 set. 1916. Actas IV. 184.
La Prensa Medica Argentina. 1916. 10 de Agosto — Año III. n.° 7. Pg. 68.
Houssay B. A. — Contribution a l'étude de l'hémolysine des araignées. C. R. Soc. de Biol., 22 Juillet 1916, Pg. 658.
Houssay B. A. — Arañas venenosas. Actas — Ia. Confer. de Soc. Hig. Micr. y Patol. 17-24 Setiembre 1916 — Rev. Circ. Med. Rosario 1917. 386.
Houssay B. A. — Datos complementarios sobre la accion fisiologica del veneno de las arañas Theraphosae. Ext. La Prensa Med. Arg. 1917 — 20 Junio, Año IV — N.° 2 — p. 18.
Houssay B. A. — *y Garibaldi F.* — Nota preliminar acerca de las arañas. Theraphosae venenosas — Extr. La Prensa Med. Arg. 1916 — 20 Julio — Año III, N.° 5 — Pg. 53.
Houssay B. A. — Nuevos datos sobre las hemolisinas de las arañas. La Prensa Med. Arg., 10 Mayo 1917 — Año III — N.° 34. P. 370.
Houssay B. A. — Activacion por los huevos de arañas de la accion hemolitica de los venenos de vibora. La Prensa Med. Arg., 20 Mayo 1917 — Año III — N.° 35. p. 382.
Houssay B. A. — Observaciones a algunas opiniones corrientes sobre las picaduras de las arañas venenosas. Semana Medica 1917 — N.° 13 — Año XXIV — 29 Marzo — p. 382.

Houssay B. A. — Sur les proprietés hémolytiques fermentatives et toxiques des extraits d'araignées.
Bull. de la Soc. de Path. Exotique 1918, XI, N.º 3, 217 in Bull. de l'Inst. Pasteur 1918, XV, N.º 11, p. 367.
Houssay B. A. — *y Negrete J.* — Estudios experimentales sobre la accion de los venenos de las arañas.
Treballos da Societad de Biologia de Barcelona, 1918, VI, 194.
Houssay B. A. y Negrete J. — Nuevos estudios experimentales sobre la accion fisiologica de las ponzoñas de las arañas.
Revista del Instituto Bacteriologico del Dt. Nal. de Higiene, 1919, II, N.º 2 — 189 — 200.

31 — *Escomel* — Le Glyptocranium gastheracanthoides, araignée venimeuse du Pérou — Étude clinique ex experimentale de l'action du venin in Bull. Soc. Path. Exot. 1908 — Pg. 136-150 — New Orleans, med. e surg. Journ. 1917 — Le latrodectus mactans ou Lucacha du Perou. Etud. clin. et exp. — Bull. Soc. Path. Exot. 1919 — Pg. 702-720.

32 — *Riley* — A contribution to the litterature of fatal spider Bites — Proc. ent. soc. Washington 1889 — N.º 139.
Riley — *W. A. and Johannsen* — Handbook of medical entomology 1915.

33 — *Kellog* — Spider poison — Journ. of Parasitology 1: 110-111 — 1915.

34 — *Baerg* — 2 contributions: Journ. Parasitology 1922 — Pg. 86-89.
The effects of the bite of latrodectus mactans. ibid. Vol. IX — March 1923.

35 — *Blanchard* — 1890 — Zoologie médicale. T. 2 — pag. 350-358-371.

36 — *Wolbum* — Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 12. 1912 — Pg. 546.
Exp. Untersuchungen uber die Gifte der Kreuzspinne — in Zeits. f. Imm. forsch. I. Teil Orig. Bd. 23 — 1915 — Pg. 565 —684.

37 — *Mme. Physalix* — Animaux venimeux et venins, t. I.

38 — *Baglivi* — Dissert. de anat. morsu et effectibus Tarentulae. Op. omn. Nurnberg 1751.

39 — *Clerck* — Aranei suecici, descriptionibus et figures...... 1757.

40 — *De Géer* — Mémoires pour servir à l'histoire naturelle des insectes — 1778.

41 — *A. Raikem*, cité par Walbum.

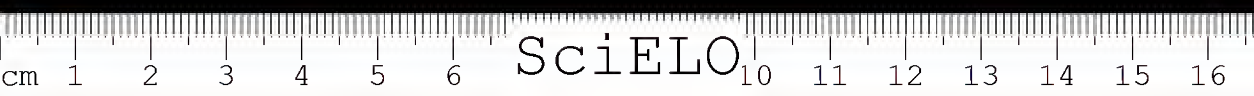
42 — *A. Dugès* — Annales des sciences naturelles 1836 — 2ème. Série — Tome 6.

43 — *Blackwall* — Experiments and observations on the poison of the animals of the order araneida, in «Trans. of the Linnean Soc. of London XXI pag. 31-37.

44 — *Ph. Bertkau* — Ueber den Bau und die Funktion der Oberkiefer bei den Spinnen, Trochels Arch. f. Naturg, 1870, XXXVI, p. 92-126.
Ueber den Verdauungsapparat der Spinnen, Arch. f. mik. ant., 1855, XXIV. Ueber das Vorkommen einer Giftspinne in Deutschland, Verh. d. Natur. Ver. 1891 — XLVIII.

45 — *Forell* — Bull. Soc. Vaudoise de Sc. natur. vol. XIV.
46 — *Pollock* — Ann. and Mag. Nat. Hist. Oct. 1872.
47 — *Doleschall* — Naturwk. Tydschr. voor Nederl. Ind. vol. XII, pag. 507.
48 — *Fabre* — Nouveaux souvenirs entomologiques — Paris 1882 — Chap. IX.
49 — *Eug. Simon* — Hist. nat. Araignées: Tome I page 556 — Tome II — page 81 et 342.
50 — *Kobert* — 1.º, Beitrage zur Kenntniss der Giftspinnen — Wien Med. Woch. 1902, N.º 26. Pag. 678 — 20. Araneengifte. Eulenburgs Enzyklop. 1903. p. 36-30. Lehrbuch der Intoxikationen 1893. Stuttgart p. 320 — 29 — 4.º, Uber die giftigen Spinnen Russlands, Biol. Centralblatt. 1888 p. 287.
51 — *Levy* — Contribution à l'étude des toxines chez les araignées: Thèse de doctorates sciences, Paris 1916 (réimp. Ann. sc. naturelles zoologie 1916 — 10.ª serie I. p. 1 — 238.
52 — *Calmette* — Les venins. 1907 — Pag. 289-91.
53 — *Comstock* — The spider Book-Doubleday Page and Co. 1912.
54 — *Faust* — Die tierischen Gifte. Braunschweig 1906 — Biochemischen Arbeitsmethoden 1910.
55 — *Klinger* — cité par Walbum.
56 — *Breeger* — Spider poison in «Sc. America 17 nov. 1888, V, p. 310.
57 — *L. Berland* — Contribution à l'étude de la biologie des araignées; Ann. Soc. Ent. Fr. Vol. XCI, 1922, 3e. trimestre.
58 — *Sachs* — 1.º Zur Kenntnis der Kreuzspinnengifte. Hofmeisters Beit. Bd. 2. 1902. 2.º Kolle und Wassermann Bd. II, t. 2, pg. 1406-1453.
59 — *C. Physalix et Bertrand* — cité par Mme. Physalix.




cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
10 11 12 13 14 15 16

Extracção das glandulas de uma aranha verdadeira.
Extraction des glandes d'une araignée vraie.



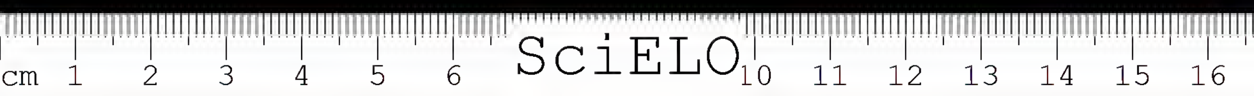
1.ª phase



2.ª phase



3.ª phase


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15 16

Extracção das glandulas de uma aranha caranguejeira.
Extraction des glandes d'une Mygale.



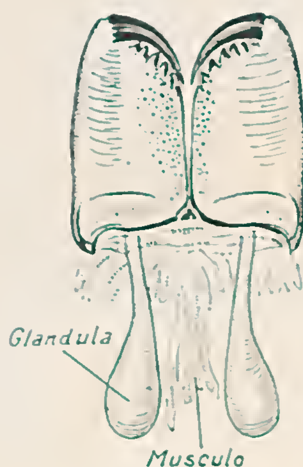
As cheliceras são cortadas com tesoura.
Les chélicères sont coupées avec des ciseaux.



Typo de glandula de veneno de aranha caranguejeira.

Type de glande de venin de Mygale.

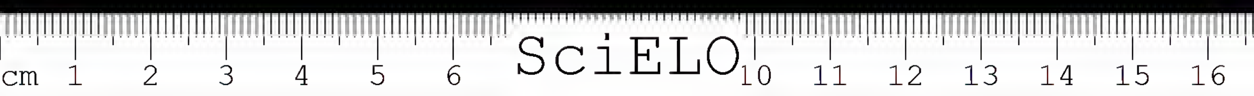
(Trechona venosa)



Typo de glandula de veneno de aranha verdadeira.

Type de glande de venin d'araignée vraie.

(Lycosa raptoria)


cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
10 11 12 13 14 15 16

Glandula de aranha, 36 horas depois de extrahido o veneno.

augm. 75 ×



Glande d'araignée, 36 heures après l'extraction du venin.

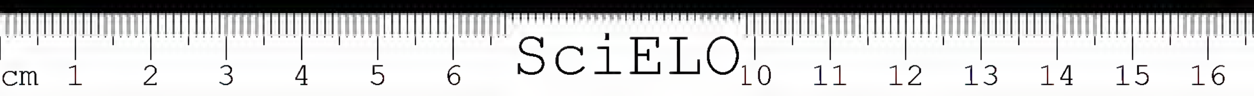
Glandula de aranha em repouso.

augm. 45 ×

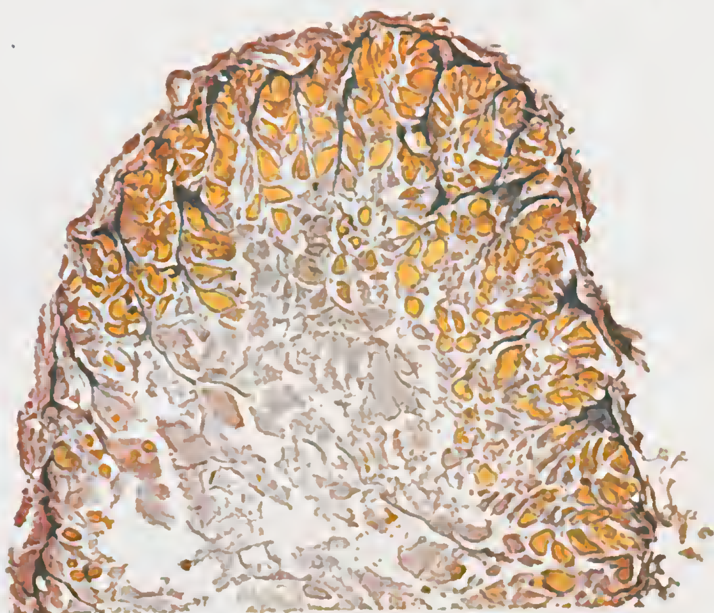


RUD. FISCHER. del.

Glande d'araignée en repos.

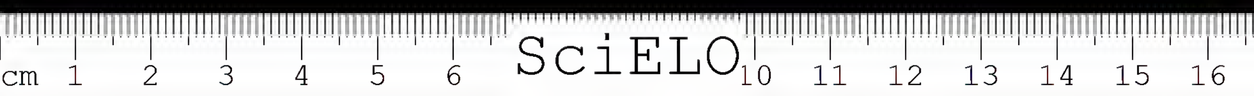

cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15 16

augm. 100 ×



RUD. FISCHER. del.

Glandula de aranha em periodo de actividade.
Glande d'araignée en période d'activité.


cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
10 11 12 13 14 15 16

RUD. FISCHER, del.



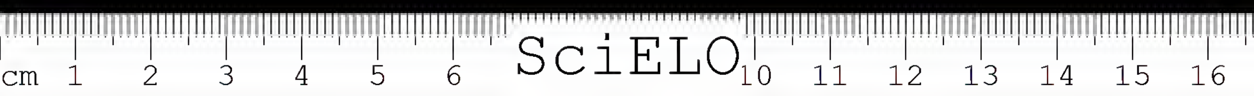
Tamanho natural

Ctenus ferus, Perty. ♀



Tamanho natural

Ctenus nigriventer, Keys. ♂


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15 16

♀

Tamanho natural



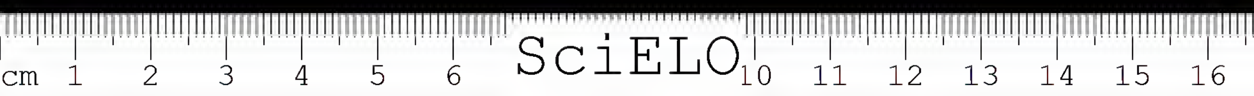
Nephila cruentata, Fabr.

Tamanho natural



Ctenus nigriventer,
em posição de defesa.
en position de défense.

RUD. FISCHER del.


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15 16

Tamanho natural

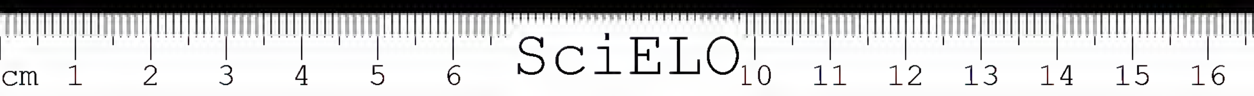
♀



RUD. FISCHER, del.

Trechona venosa, Latr.

SciELO


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15 16

Mordeduras de aranhas.
Morsures d'araignés.

Casos observados pelo Dr. Vital Brazil.
Cas observés par le Dr. Vital Brazil.

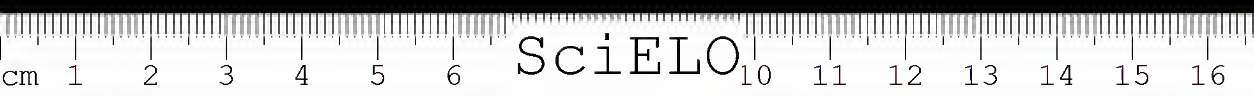


Ulceração profunda do braço.
Ulcération profonde du bras.



Caso leve não chegando á gangrena.
Cas léger n'arrivant pas à la gangrène.

Segundo peças de cêra do Museu do Instituto.


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15 16

Mordedura de aranha. **Morsure d'araignée.**

Caso observado pelo Prof. Dr. R. Kraus e Dr. Rocha Botelho.
Cas observé par le Prof. Dr. R. Kraus et Dr. Rocha Botelho.



Aspecto no 2.º dia depois do accidente
Aspect le 2.º jour après la morsure.

Em consequencia da mordedura, o braço augmentou seu diametro cerca de 50 %.



Aspecto no 7.º dia depois da mordedura.
Aspect le 7.º jour après la morsure.



Aspecto no 25.º dia depois da mordedura.
Aspect le 25.º jour après la morsure.

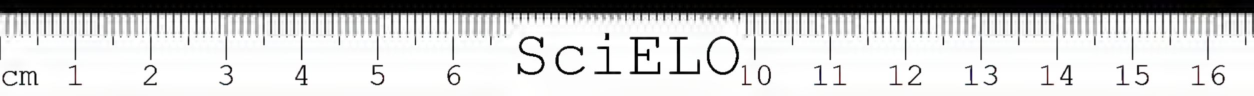


Aspecto cerca de 5 mezes depois da mordedura.
Aspect 5 mois environ après la morsure.
cicatrizado — cicatrisé

Segundo desenhos do Museu do Instituto — RUD. ISCHER, del.



Aspecto cerca de 2 annos depois da mordedura
Aspect 2 ans environ après la morsure


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15 16

Mordedura de aranha.

Morsure d'araignée.

Caso observado pelo Prof. Dr. R. Kraus e Dr. Rocha Botelho.
Cas observé par le Prof. Dr. R. Kraus et Dr. Rocha Botelho.



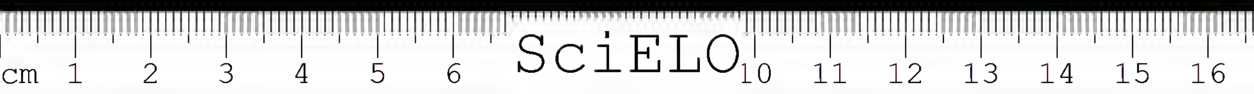
Aspecto no 1.º dia depois da mordedura.
Aspect le 1.º jour après la morsure.



Aspecto no 6.º dia depois da mordedura.
Aspect le 6.º jour après la morsure.

RUD. FISCHER. del.

Segundo desenhos do Museu do Instituto.


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15 16

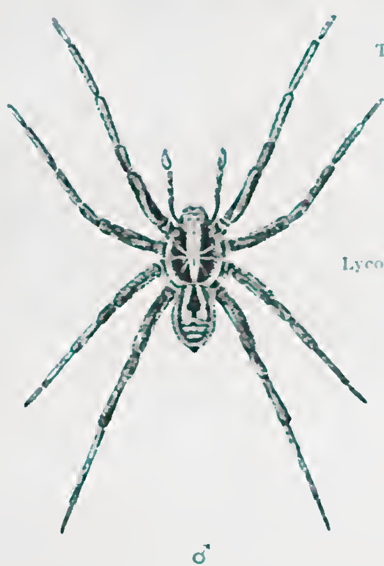
Mordedura de aranha
Caso observado pelo Dr. J. L. Guimarães

Morsure d'araignée
Cas observé par le Dr. J. L. Guimarães

(Sta. Casa de São Paulo)



Tamanho natural

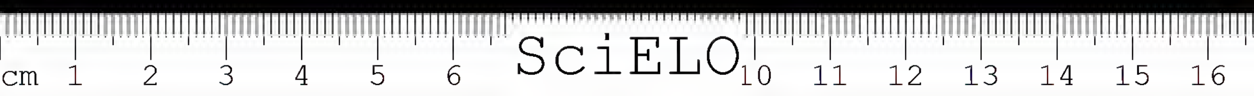




Lycosa raptoria Walck

♂ ♀

RUD. FISCHER, del.


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15 16

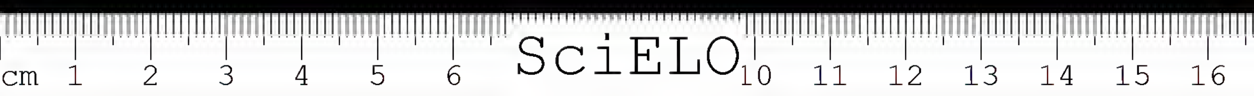


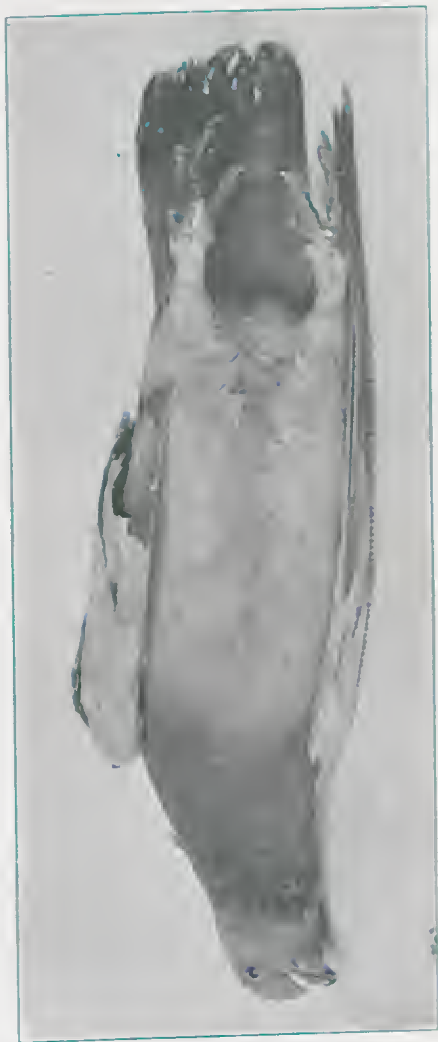


Lesões provocadas por injecções intradermicas de veneno de Lycosa raptoria.

Lésions provoquées par injections intradermiques de venin de Lycosa raptoria.

3.º dia depois da inoculação. 3.º jour aprés l'inoculation.

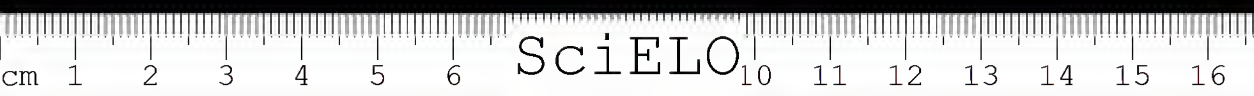

cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15 16



Attitude de um pombo que recebeu veneno de Ctenus nigriventer.
Attitude d'un pigeon ayant reçu une injection de venin de Ctenus nigriventer

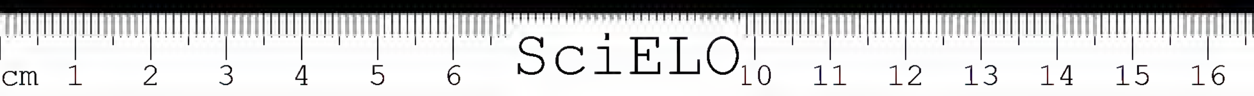


Attitude de um pombo que recebeu veneno de Trechona venosa.
Attitude d'un pigeon ayant reçu une injection de venin de Trechona venosa.


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15 16



Attitude de um rato que recebeu veneno de Ctenus nigriventer.
Attitude d'un rat ayant reçu une injection de venin de Ctenus nigriventer.


cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
10 11 12 13 14 15 16

UM NOVO GENERO E DUAS ESPECIES NOVAS DE ARANHA DO ESTADO DE S. PAULO

PELO

DR. J. VELLARD

(Estampas 15, 16)

FAMILIA DAS BARYCHELIDAE

Gen. Neostothis, gen. nov.

Cephalothorax convexo na femea, baixo no macho, fossetta posterior grande, oval transversa.

Olhos ant. em linha medianamente procurva, os medianos pouco maiores do que os lateraes; MP muito menores que os lateraes post.; lat. ant. e post. separados uns dos outros apenas $^1/_2$ diametro; clypeus bem maior que os LA. Rastellum pouco desenvolvido, formado de espinhos setiformes e de crinas irregulares; labium mais largo do que comprido, armado na femea, de 2-5 espinulas apicaes e de 2 somente no macho, impressões posteriores do sternum marginaes, circulares.

Patas robustas, espinhosas, compridas na femea, e muito longas no macho: tibias e protarsos dos 4 pares direitos, normaes nos dois sexos; escopulas inteiras a i, ii e iii, face inf. do tarso iv occupado por uma larga faixa de crinas deixando de cada lado uma linha estreita de escopulas; fasciculos ungueaes pequenos, mal contendo 2 grandes unhas, armadas de 2 series de 5 dentes.

Tibia ant. do macho com 1 pequenissima espinha int. não tuberculada, igual ás outras espinhas do segmento, sem apophyses.

Fiandeiras curtas, o segmento basal igual ao 2.º e ao 3.º reunidos, o apical muito curto.

Bulbo curto, ligeiramente deprimido do lado, terminado por uma ponta fina maior que o tegulum.

Typo: *Neostothis gigas*, sp. nov. — Patria: Est. de São Paulo.

Differe sobretudo dos generos Stothis e Psalitops pelo grande comprimento do clypeus, as escopulas de 3 pares ant. inteiras e a larga faixa de crinas no tarso post.

Neostothis gigas, sp. nov.

Femea: Comp. 37; Cephth. (sem cheliceras) $^{16}/_{13}$, larg. post. 7, larg. ant. 9; cheliceras 3; St. $^7/_5$; Abd. $^{15}/_{13}$; i = 37, ii = 33, iii = 32, iv = 43.

i = 11.7.7.7.5 iv = 12.6.8.12.5.

Cephath. bem convexo, região cephalica limitada por um sulco em V largamente aberto post., indo até os angulos da fossetta que é grande, oval e profunda; tuberculo ocular assaz elevado, mais largo do que comprido (1,5×2).

Olhos: MA separados entre si por $^1/_2$ diametro, menos de metade dos LA; LP ligeiramente menores que os LA contiguos aos MP.

Cheliceras mediocres; maxillas com uma pequena area basal de fortes espinulas bem separadas.

Patas: tibias e protarsos i e ii pouco espinhosos, iii e iv com numerosos espinhos irregulares.

Face int. dos femurs i e iv, glabro, brilhante.

Coloração: toda a aranha é coberta de densos pellos cinzento escuro, misturados de alguns pellos cinzentos amarellados na face inf. das patas.

Macho: Comp. 26; Cephath. $^{13}/_{10,5}$ (av. chelic. 16), larg. ant. 5,5, post. 5,5; St. 5,5 4,5; i = 41, ii = 38,5, iii = 38, iv = 48,5.

i = 11.6,5.8.10.5,5; iv = 12.5,5.10.15,5.5,5.

Cephth. muito baixo, quasi que em linha recta dorsalmente; fossetta post. muito larga e profunda.

Olhos semelhantes aos da femea, mas os MA sensivelmente maiores que os LA e estes maiores que os LP; labium com 2 espinulas apicaes (in. ex. un)

Patas compridas e finas; todos os segmentos são direitos, sem deformação.

Apparelho genital: patellas com 2 espinhas lateraes ext. e 1 int.; tibia sem rastellum nem granulações, com numerosas e fortes espinhas sobretudo apicaes, tarso curto, bilobado, passando um pouco o bulbo.

Coloração semelhante á da femea.

Numerosas femeas adultas e 1 macho, da collecção do Inst. de Butantan, N.° 104, foram capturadas no Alto da Serra, Raiz da Serra e Anna Dias. (Est. de São Paulo).

FAMILIA DAS DRASSIDAE

Laronia maculipes, sp. nov.

Femea: Comp. 5 mm.; Cephth. 2/1,5; larg. ant. 1; St. 1,5/1; Abd. 3,5/2,1.

i = 4,3, iv = 5,2.

Cephalothorax assaz convexo com uma estria mediana, curta e algumas estrias irradiantes pouco distinctas.

Olhos em duas linhas; a ant. fortemente procurva (bord. ant. MA tangente ao centro LA), a post., bem recurvada (Bord. post. MA tangente ao centro LP), os medianos formando 1 quadrilatero um pouco mais largo post. do que alto, mais estreito anteriormente; MA iguaes aos MP, cerca de $^1/_3$ menores que os LA dos quaes são distantes de $^1/_2$ diametro, separados entre elles e dos MP por seu diametro; MP separados entre elles de uma vez e meia seu diametro e do seu diametro dos LP, que são ligeiramente menores que os LA.

Patas curtas, 4-1-2-3; trochantera iii e sobretudo iv muito maiores que i e ii (iv o dobro de i); tibias e protarsos com espinhos ventraes dispostos em pares (3 nas tib. ant., 5 nas post.) e espinhos lateraes faltando nas patas anteriores; os tarsos armados de pellos espinhosos.

Epigyno em forma de fossetta lanceolada.

Abdomen ovoide, mais largo posteriormente.

Coloração: Cephth. castanho avermelhado, as margens castanho escuro; labium, maxillas, sternum, coxas i e ii castanho avermelhado, coxas iii, e iv castanho amarellado, todos os trochantes brancos.

As patas variam do castanho amarellado para o castanho escuro, as patellas i e ii amarelladas, iii e iv brancas com uma pequena mancha castanha.

Abdomen castanho escuro, com tegumentos rugosos, com rugas transversaes; quasi glabro, com raros pellos escuros; na parte ant. 2 grandes manchas lateraes quasi confluentes amarelladas (sendo attenuadas em alcool).

Ventre com um grande espaço triangular da mesma cor, ás vezes pouco distincto.

Macho: Comp. 3,5; Abd. 2.

Menor, mas muito semelhante á femea, os olhos um pouco mais agrupados (MA contiguos ao LA) LP menos separados dos LA, cerca de 1/4 menores que os ultimos. Patas mais longas e mais espinhosas.

Apparelho genital: Tibia curta, do mesmo comprimento que a patella, armado com um forte apophyse latero dorsal do mesmo comprimento que a tibia, e ligeiramente curvo na parte apical; tarso volumoso, passando um bulbo muito simples, armado de crinas rijas no apex.

Coloração: como a da femea, o abdomen sem manchas basaes.

2 machos e 2 femeas, n.° 79 da collecção do Inst. de Butantan, foram encontrados numa bromeliacea perto do Instituto.

L. Maculipes, a primeira especie brasileira deste grupo eleva a 3 o numero das especies sul americanas de Laronia actualmente descriptas; estas 3 especies distinguem-se facilmente com o auxilio do quadro seguinte:

A — Olhos medianos ant. e post. subiguaes aos lateraes (ou pouco maiores).

L. rufithorax, Sim. (Venezuela).

B — Olhos medianos ant. e post. nitidamente menores que os lateraes.

1 — Coxa, trochantera e patas brancas.

L. maculipes, sp. nov. (Brasil).

2 — Patas inteiramente avermelhadas, os tarsos quasi pretos.

L. variegata, Sim. (Uruguay).

Butantan, 12 de Fevereiro de 1925.

UN NOVEAU GENRE ET DEUX ESPÉCES NOUVELLES D'ARAIGNÉES DE L'ETAT DE S. PAULO

PAR LE

DR. J. VELLARD

(Planche 15 et 16)

FAMILLE DES BARYCHELIDAE

Gen. Neostothis, gen. nov.

Céphalothorax convexe chez la femelle, bas chez le mâle; fossette post. grande, ovale, transverse. Yeux ant. en ligne moyennement procurve, les médians légérement plus gros que les latéraux; MP beaucoup plus petits que les latéraux postérieurs; latéraux ant. et post. distants d'à peine leur demi diamètre; clypeus bien plus grand que les LA. Rastellum assez peu dévéloppé, formé d'épines sétiformes et de crins irréguliers; labium plus large que long armé chez la femelle de 2-5 spinules apicales, de 2 chez le mâle; impressions sternales post. marginales, circulaires. Pattes robustes, épineuses, longues chez la femelle, très longues chez le mâle; tibias et protarses des 4 paires droits, normaux dans les deux sexes; scopules entières à i, ii et iii; face inf. du tarse iv occupée par 1 large bande de crins rejetant latéralement 1 étroite bande de scopule; fascicules unguéaux petits, cachant mal 2 grands ongles, armés de 2 séries de 5 dents. Tibia ant. du mâle avec 1 trés petite épine int. non tuberculée semblable aux autres, sans apophyses. Filières courtes, le segment basal égalant le 2ème. et le 3ème. réunis, l'apical trés court. Bulbe court, legèrement déprimé lat. terminé par 1 pointe fine plus longue que le tegulum.

Type: *Neostothis gigas*, sp. nov. — Patrie: Estado de São Paulo.

Diffère surtout des genres Stothis et Psalitops par la grande largeur du clypeus, les scopules des 3 paires ant. entières et la large bande de crins des tarses post.

Neostothis gigas, sp. nov.

Femelle: Long. 37; Céphth. (sans chélic. $^{16}/_{13}$, larg. post. 7, larg. ant. 9; chélicères 3; St. $^{7}/_{5}$; Abd. $^{15}/_{13}$; i = 37, ii = 33, iii = 32, iv = 43.

i = 11.7.7.7.5 iv = 12.6.8.12.5.

Céphth. bien convexe: région céphalique limitée par 1 sillon en V largement ouvert post., aboutissant aux angles de la fossette qui est large, ovale et profonde: mamelon occulaire assez élévé, plus large que long (1,5×2).

Yeux: MA séparés entre eux de leur 1/2 diamètre, moitié moins des LA; LP légérement plus petits que les LA subcontigus aux MP. Chélicères médiocres; maxilles avec 1 petite aire basale de grosses spinules bien séparées. Pattes: tibias et protarses i e ii peu épineux, iii et iv avec de nombreux épines irrégulières.

Face int. des femurs i et iv, glabre, brillante.

Coloration: Toute l'araignée recouverte de dense pubescence gris noir mélangée de quelques poils gris jaune à la face inf. des pattes.

Mâle: Long. 26; Céphth. 13/10,5 (av. chélic. 16), larg. ant. 5,5, post. 5,5; St. 5,5/4,5; i = 41, ii = 38,5, iii = 38, iv = 48,5;
i = 11.6,5.8.10.5,5; iv = 12.5,5.10.15,5.5,5.

Céphth. très bas, presque en ligne droite dorsalement; fossette post. trés large et profonde.

Yeux semblables à ceux de la femelle, mais les MA sensiblement plus gros que les LA et ceux-ci plus gros que les LP; labium avec 2 spinules apicales (in. ex. un.).

Pattes longues et fines; tous les segments droits, sans déformation. Appareil génital: patelle avec 2 épines lat. ext. et 1 int.; tibia sans rastellum ni granulations, avec de nombreuses et fortes épines surtout apicales tarse court, bilobé, dépassant peu le bulbe. Coloration semblable à celle de la femelle.

Nombreuses femelles adultes et 1 mâle, dans la coll. de l'Institut de Butantan, n.º 104, provenant de Alto da Serra, Raiz da Serra et Anna Dias, E. S. P.

FAMILLE DES DRASSIDAE

Laronia maculipes, sp. nov.

Femelle: Long. 5 mm.; Céphth. 2/1,5; larg. ant. 1; St. 1,5/1; Abd. 3,5/2,1; i = 4,3, iv = 5,2.

Céphalothorax assez convexe, pourvu d'une strie médiane courte et de quelques stries irradiantes peu distinctes. Yeux sur 2 lignes; l'ant. fortement procurve (bord ant. MA vers le centre LA), la post. bien récurve (bord. post. MP vers le centre LP); les médians formant 1 quadrilatère un peu plus large post. que haut, plus étroit ant.; MA égaux aux MP, 1/3 env. plus petits que les LA dont ils sont eloignés de leur demi-diamètre, séparés entre eux et des MP par leur diamètre MP séparés entre eux d'une fois et demie leur diamètre et de leur diamètre des LP que sont légérement plus petits que les LA. Pattes courtes, 4-1-2-3: trochantera iii et surtout iv beaucoup plus longs que i et ii (iv double de i); tibias et protarses avec des épines ventrales disposées par paires (3 aux

tib. ant., 5 aux post.) et des épines latérales manquant aux pattes ant.; les tarses armés en dessous de poils spiniformes. Epigyne en forme de fossette lancéolée.

Abdomen ovoide, plus large posterieurement.

Coloration: Céphth. brun rouge, les marges brun noir; labium, maxilles, sternum, coxae i et ii brun rouge, coxae iii et iv brun jaune, tous les trochantera blanc pur. Pattes variant du brun rouge au brun noir, les patelles i et ii jaunâtres, iii et iv blanc pur avec une petite tache apicale brune. Abdomen brun noir, de téguments rugueux, ridés transversalement, presque nu avec quelques trés rares poils obscurs; à la partie ant. 2 grandes taches latérales presque confluentes jaunâtres (s'atténuant dans l'alcool). Ventre avec un grand champ triangulaire de même couleur, souvent peu distinct.

Mâle: Long. 3,5, Abd. 2.

Plus petit, mais presque semblable à la femelle, les yeux un peu plus groupés (MA contigus aux LA; LP moins éloignés des LA, 1/4 env. plus petits que ces derniers). Pattes plus longues et plus épineuses. Appareil génital: Tibia court, de même longeur que la patelle, pourvu ext. d'un éperon latéro-dorsal de même longeur que le tibia, légèrement coudé à sa partie apicale; tarse volumineux dépassant 1 bulbe assez simple, armé de crins raides à l'apex. Coloration semblable à celle de la femelle, l'abdomen sans taches basales.

2 mâles et 2 femelles, n.° 79 de la coll. de l'Instituto de Butantan, trouvés dans 1 broméliacée prés de l'Institut.

L. maculipes, la premiére espèce brésilienne de ce groupe porte à 3 le nombre des espèces sud-américaines de Laronia actuellement décrites; ces 3 espèces se distinguent facilement à l'aide du tableau suivant:

A — Yeux médians ant. et post. subégaux aux latéraux (ou à peine plus grands).

L. rufithorax, Sim. (Venezuela).

B — Yeux médians ant. et post. nettement plus petits que les látéraux:

1 — Coxae, trochantera et patellae blancs.

L. maculipes, sp. nov. (Brasil).

2 — Pattes entièrement rougeâtres, les tarses ant. presque noirs:

L. variegata, Sim. (Uruguay).

Butantan, 12 Février 1925.





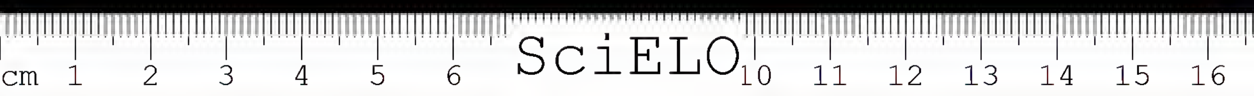


♀ . ♂

Tamanho natural

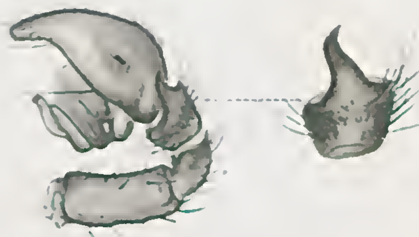
RUD. FISCHER, del.

Neostothis gigas, sp. nov.


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15 16

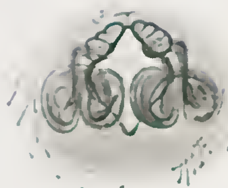
♂ augm. 5 ×





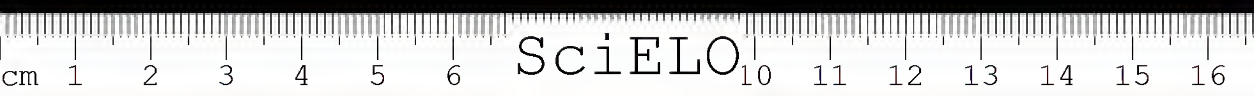
♀ augm. 5 ×





RUD. FISCHER del.

Laronia maculipes, sp. nov.


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15 16

IMMUNISAÇÃO ANTI-TETANICA PELO METHODO TOXOIDE-TOXINA

PELO

DR. JOSÉ LEMOS MONTEIRO

(ASSISTENTE DO INSTITUTO)

N'um trabalho anterior [1], tratamos do preparo de toxoides tetanicos pelo methodo da formalina, preconisado por Loewenstein e V. Eisler e assignalamos que a proporção de formalina indicada por estes autores e usada por Sordelli [2], em Buenos Ayres, não podia ser por nós empregada, visto como a toxina tetanica que obtemos em Butantan, geralmente de D. M. M. < 0,0005 cc., assim tratada, permanecia toxica para a cobaya, mesmo depois de uma permanencia de muitos mezes na estufa a 37°.

A permanencia assim prolongada n'essa temperatura prejudicaria certamente o poder antigenico do toxoide, mesmo se fosse possivel a sua obtenção com a proporção de formalina indicada (1,5 por 1000).

O necessario seria a obtenção mais ou menos rapida do toxoide.

No nosso trabalho enumeramos a longa serie de experiencias que realizamos com o fim de estabelecer uma proporção de formalina que, juntada á toxina preparada segundo a technica por nós adoptada, a transformasse em toxoide no fim de poucos dias, isto é, que a tornasse atoxica para a cobaya, embora fossem conservadas as suas propriedades antigenicas.

É bastante dizer, no momento, que, das differentes proporções de formalina, consideramos a mais conveniente a de 5 ‰ para a attenuação da toxina e sua transformação em toxoide.

E o preparo do toxoide assim se resume: filtrada a toxina tetanica, junta-se formalina na proporção de 5 ‰ e colloca-se na estufa a 37°.

No fim de 8 a 10 dias retira-se da estufa e verifica-se sua toxidez para a cobaya de 330 a 360 grs., injectando 5 cc. Se o animal sobreviver sem symptomas de tetano, durante uma semana de observação, o toxoide está preparado; se não (declarando-se os symptomas na cobaya) colloca-se novamente na estufa onde se deixa mais alguns dias, no fim dos quaes repete-se a inoculação.

---

(1) J. LEMOS MONTEIRO — Preparo de toxoides tetanicos pelo methodo da formalina — Annaes Paulistas de Med. e Cir. (Vol. XII, n. 1, Janeiro 1921).

(2) A. SORDELLI — Revista do Instituto Bacteriologico, 1. Vol. n. 1 (Agosto, 1918).

Geralmente em menos de 15 dias a attenuação da toxina é completa, conservando o toxoide tetanico assim preparado, as suas propriedades antigenicas, como verificamos.

O toxoide preparado é conservado em frasco escuro na geladeira.

O fim principal d'este trabalho é assignalar, apresentando alguns protocolos, os resultados da immunisação de cavallos por este methodo, que chamaremos de toxoide-toxina tetanica.

Embora o numero de observações não seja muito elevado, é sufficiente para justificar algumas considerações sobre as vantagens do methodo.

Daremos a seguir uma serie de protocolos de animaes immunisados, pelos quaes se verá a marcha da immunisação.



I — **Cavallo n. 70** | *Idade: 9 annos.* | *Procedencia: Nacional.*

DATA		TOXOIDE INJECTADO	TOXINA INJECTADA	SANGRIAS	Valor do sôro e observações
Junho	15	100 cc.			
	21	100 cc.			
	28	200 cc.			Reacção local
Julho	5			Exploradora	Não dosa 1 u. a.
	8	200 cc.			Reacção local
	15		50 cc.	Exploradora	Dosa + 1 u. a.
	22		100 cc.		
	30		100 cc.		
Agosto	4		200 cc.	Exploradora	Dosa + 50 u. a.
	10		300 cc.		
	16			Exploradora	Dosa 100 u. a.
	17		400 cc.		
	28		500 cc.		
Setembro	11			6 litros	
	14		550 cc.		
	25			6 litros	
	28		600 cc.		
Outubro	4			Exploradora	Dosa — 100 u. a.
	13		650 cc.		
	19		700 cc.	Exploradora	Dosa — 100 u. a.
	25			Exploradora	Dosa + 100 u. a.
	29		750 cc.		
Novembro	12			6 litros	
	13		400 cc.		
	18			Explorodora	Dosa 150 u. a.
	30		300 cc.		
Dezembro	9			Exploradora	Dosa 150 u. a.
	15			6 litros	
	28		400 cc.		
Janeiro	1			Exploradora	Dosa — 100 u. a.
	12		200 cc.		
	19			Exploradora	Dosa 100 u. a.
	24		300 cc.		
Fevereiro	4			6 litros	
	14		400 cc.		
	21			Exploradora	Dosa — 100 u. a.
Março	2		400 cc.		
	16			Exploradora	Dosa + 100 u. a.
	22			6 litros	
	28		400 cc.		

II — **Cavallo n. 303** | *Idade: 9 annos.* | *Procedencia: Nacional.*

DATA		TOXOIDE INJECTADO	TOXINA INJECTADA	SANGRIAS	Valor do sôro e observações
Junho	15	100 cc.			
	21	100 cc.			
	28	200 cc.			Reacção local
Julho	5			Exploradora	Não dosa 1 u. a.
	8	200 cc.			Reacção local
	15		50 cc.	Exploradora	Dosa 1 u. a.
	22		100 cc.		
	30		100 cc.		

(Continuação)

DATA		TOXOIDE INJECTADO	TOXINA INJECTADA	SANGRIAS	Valor do sôro e observações
Agosto	4		200 cc.		
	5			Exploradora	Dosa — 50 u. a.
	10		300 cc.	Exploradora	Dosa 50 u. a.
	17		300 cc.		
	26			Exploradora	Dosa 100 u. a.
	28		500 cc.		
Setembro	11			Expl. e 6 lit.	Dosa 150 u. a.
	14		550 cc.		
	25			litros	
	28		600 cc.		
Outubro	4			Exploradora	Dosa 150 u. a.
	8		500 cc.		
	19		600 cc.		
	29		650 cc.		
Novembro	12			6 litros	
	13		400 cc.		
	18			Exploradora	Dosa + 100 u. a.
	30		300 cc.		
Dezembro	9			Explorapora	Dosa + 100 u. a.
	15			6 litros	
	28		400 cc.		
Janeiro	4			Exploradora	Dosa + 200 u. a.
	13			6 litros	
	19			Explorodora	Dosa + 100 u: a.
	24		300 cc.		
Fevereiro	4			6 litros	
	11		300 cc.		
	17		200 cc.		
	21			Exploradora	Dosa + 100 u. a.
Março	1			6 litros	
	3		300 cc.		
	16			Exploradora	Dosa 300 u. a.
	22			6 litros	

III — Cavallo n. 308 { *Idade: 12 annos.* *Procedencia: Nacional.* }

DATA		TOXOIDE INJECTADO	TOXINA INJECTADA	SANGRIAS	Valor do sôro e observações
Julho	25	50 cc.			Oedema na zona da inoculação
	30	50 cc.			
Agosto	4	50 cc.			
	9	100 cc.			
	15	200 cc.		Exploradora	Dosa 1 u. a.
	22		50 cc.		
	27		100 cc.		
Setembro	2		150 cc.		
	9		200 cc.	Exploradora	Dosa — 50 u. a.
	15		250 cc.		
	22		300 cc.		
	30			Exploradora	Dosa + de 50 u. a.
Outubro	1		350 cc.		
	8		400 cc.		
	15			Exploradora	Dosa + de 80 u. a.
	22		500 cc.		
Novembro	1			Exploradora	Dosa + de 100 u. a.
	8		600 cc.		
	17			6 litros	Dosa + de 150 u. a.

IV — Cavallo n. 355 | *Idade: 9 annos.* *Procedencia: Nacional.*

DATA		TOXOIDE INJECTADO	TOXINA INJECTADA	SANGRIAS	Valor do sôro e observações
Julho	11	50 cc.			
	18	100 cc.			
	25	100 cc.			
Agosto	1	200 cc.			
	8	200 cc.			
	11			Exploradora	Dosa — 1 u. a.
	16	200 cc.			
	24			Exploradora	Dosa — 1 u. a.
	30	200 cc.			
				Exploradora	Dosa 1 u. a.
Setembro	10		50 cc.		
	13		50 cc.		
	20		100 cc.		
	27		150 cc.		
Outubro	4		200 cc.		
	11			Exploradora	Dosa 10 u. a.
	16		250 cc.		
	18		250 cc.		
	25		300 cc.		
Novembro	1		300 cc.		
	14		350 cc.		
	23			Exploradora	Dosa — 50 u. a.
	27		350 cc.		
	29		400 cc.		
Dezembro	6		300 cc.		
Janeiro	3		350 cc.		
	10		400 cc.		
	17		400 cc		
	24		450 cc.		
	31		450 cc.	Exploradora	Dosa 80 u. a.
Fevereiro	7			Exploradora	Dosa — 100 u. a.
	22		400 cc.		
	27			Exploradora	Dosa 100 u. a.
Março	8			5 litros	
	18				

V — Cavallo n. 356 | *Idade: 9 annos.* *Procedencia: Nacional.*

DATA		TOXOIDE INJECTADO	TOXINA INJECTADA	SANGRIAS	Valor do sôro e observações
Agosto	1	50 cc.			
	8	50 cc.			
	16	100 cc.			
	23	100 cc.			
	30	200 cc.			
Setembro	10			Exploradora	Dosa 1 u. a.
	13	200 cc.			
	20	200 cc.			
	25			Exploradora	Dosa 1 u. a.
	27		50 cc.		
Outubro	4		50 cc.		
	11		100 cc.		
	16			Exploradora	Dosa 10 u. a.
	18		150 cc.		
	25		200 cc.		

(Continuação)

DATA		TOXOIDE INJECTADO	TOXINA INJECTADA	SANGRIAS	Valor do sôro e observações
Novembro	1		200 cc.		
	8		250 cc.		
	14		250 cc.		
	23		300 cc.		
	27			Exploradora	Dosa 50 u. a.
	29		300 cc.		
Dezembro	6		350 cc.		
Janeiro	3		250 cc.		
	10		300 cc.		
	17		350 cc.	Exploradora	Dosa + 100 u. a.
	24		350 cc.		
	31		400 cc.		
Fevereiro	7		400 cc.	Exploradora	Dosa 200 u. a.
	22			Exploradora	Dosa 300 u. a.
	26			(1.ª) 6 litros	

VI — Cavallo n. 357 { *Idade: 9 annos.* *Procedencia: Nacional.*

DATA		TOXOIDE INJECTADO	TOXINA INJECTADA	SANGRIAS	Valor do sôro e observações
Agosto	1	50 cc.			
	8	50 cc.			
	16	100 cc.			
	23	100 cc.			
	30	200 cc.			
Setembro	10			Exploradora	Dosa — 1 u. a.
	13	200 cc.			
	20	200 cc.			
	25			Exploradora	Dosa 1 u. a.
	27		50 cc.		
Outubro	5		50 cc.		
	11		100 cc.		
	16			Exploradora	Dosa — 10 u. a.
	18		150 cc.		
	25		200 cc.		
Novembro	4		200 cc.		
	8		250 cc.		
	14		250 cc.		
	23		300 cc.		
	27			Exploradora	Dosa + 10 e - 50 u. a.
	29		300 cc.		
Dezembro	6		350 cc.		
Janeiro	3		250 cc.		
	10		300 cc.		
	17		350 cc.		
	24		350 cc.		
	31		400 cc.		
Fevereiro	7		400 cc.	Exploradora	Dosa 100 u. a.
	22			Exploradora	Dosa 100 u. a.
	26			(1.ª) 5 litros	

VII — Cavallo n. 358 { *Idade: 13 annos.* *Procedencia: Nacional.*

DATA		TOXOIDE INJECTADO	TOXINA INJECTADA	SANGRIAS	Valor do sôro e observações
Agosto	1	50 cc.			
	8	50 cc.			
	16	100 cc.			
	23	100 cc.			
	30	200 cc.			
Setembro	10			Exploradora	Dosa + 1 u. a.
	13		50 cc.		
	20		50 cc.		
	27		100 cc.		
Outubro	4		150 cc.		
	11		200 cc.		
	16			Exploradora	Dosa + 10 u. a.
	18		250 cc.		
	25		300 cc.		
Novembro	1		300 cc.		
	8		350 cc.		
	14		350 cc.		
	23		400 cc.		
	27			Exploradora	Dosa + 50 u. a.
	29		400 cc.		
Dezembro	6		450 cc.		
Janeiro	3		350 cc.		
	10		400 cc.		
	17		450 cc.	Exploradora	Dosa — 100 u. a.
	24		450 cc.		
	31		500 cc.		
Fevereiro	7		500 cc.	Exploradora	Dosa 100 u. a.
	22			Exploradora	Dosa 100 u. a.
	26			(1.ª) 6 litros	

VIII — Cavallo n. 359 { *Idade: 7 annos.* *Procedencia: Nacional.*

DATA		TOXOIDE INJECTADO	TOXINA INJECTADA	SANGRIAS	Valor do sôro e observações
Setembro	5	50 cc.			
	13	50 cc.			
	20	100 cc.			
Outubro	4	200 cc.			
	11	200 cc.			
	16			Exploradora	Dosa 1 u. a.
	18		50 cc.		
	25		50 cc.		
Novembro	1		100 cc.		
	8		100 cc.		
	14		150 cc.		
	23		150 cc.		
	27			Exploradora	Dosa + 10 u. a.
	29		200 cc.		
Dezembro	6		200 cc.		
Janeiro	3		100 cc.		
	10		150 cc.		
	17		200 cc.	Exploradora	Dosa 50 u. a.
	24		200 cc.		
	31		250 cc.		

(Continuação)

DATA		TOXOIDE INJECTADO	TOXINA INJECTADA	SANGRIA	Valor do sôro e observações
Fevereiro	7		250 cc.	Exploradora	Dosa 80 u. a.
	13		300 cc.		
	20		300 cc.		
	27		350 cc.		
Março	5		350 cc.	Exploradora	Dosa + 100 u. a.
	18			(1.ª) 5 litros	

IX — Cavallo n. 284 (*) | *Idade: 16 annos.* *Procedencia: Nacional.*

DATA		TOXOIDE INJECTADO	TOXINA INJECTADA	SANGRIAS	Valor do sôro e observações
1925					
Janeiro	30	50 cc.			
Fevereiro	6	50 cc.			
	12	100 cc.			
	19	150 cc.			
	26	200 cc.		Exploradora	Dosa + 1 u. a.
Março	5		50 cc.		
	12		50 cc.		
	19		100 cc.		
	26		150 cc.		
Abril	2		200 cc.		
	8		250 cc.		
	15		300 cc.	Exploradora	Dosa + 100 u. a.
	22		350 cc.		
	29		400 cc.	Exploradora	Dosa 300 u. a.
Maio	14			1.ª definitiva 5 litros	Dosa 300 u. r.

O valor anti-toxico do soro, após a immunisação por este methodo, dos animaes considerados bons productores, variava de 100 a 300 u.a. por cc. em sangria directa, valor mais que sufficiente para a obtenção de soros de alto poder, com os processos de concentração que o Instituto adopta.

Estes mesmos cavallos, em reimmunisações posteriores, attingiram dosagens mais elevadas (300 e 400 u.a. por cc.).

É preciso assignalar que, em immunidade, o factor individual

(*) Já haviam sido entregnes os originaes deste trabalho, para a pnblicação nas "MEMORIAS", quando terminamos a immnnização, pelo processo descripto, de nma turma de 3 animaes.

Em virtude do atrazo da pnblicação, julgamos conveniente jnntar ao trabalho mais esta observação.

Estes cavallos, ns. 210, 276 e 284 estiveram em serviço de diphteria, onde os dois primeiros eram regulares e o ultimo, (n. 281), muito bom prodnctor de anti-toxina.

Os de ns. 210 e 276 fizemos voltar ao primitivo serviço, por não se mostrarem bons prodnctores de anti-toxina tetanica. Receberam ambos 6 injecções de toxoide, não apresentando, após isto, 1 u. a. em cc. de sôro.

Emquanto isto, o de n. 281, após a 1.ª injecção de toxoide, accusava em seu sôro + 1 u. a. por cc.

Resolvemos, por isto, em virtude da nossa não peqnena experiencia anterior, só continuar com a immnnização do n. 284.

O resultado obtido, mais uma vez, confirmou a nossa supposição, dosando este cavallo, no curto prazo de 3 mezes e meio, 300 u. a. por cc.

é de grande importancia. Com maior numero de animaes, certamente se encontraria algum cujo soro dosasse 400, 500 e mesmo 600 u.a. por cc., o que é rarissimo observar nos serviços de sorotherapia anti-tetanica dos differentes Institutos.

Sabemos já terem sido encontrados cavallos dosando 600 e até 800 u.a. por cc. Isto representa excepções em centenares de cavallos experimentados.

A verificação do poder anti-toxico do soro deve ser feita pelo methodo, officialmente adoptado entre nós, de Rosenau e Anderson. Differenças de technica empregada para a dosagem ou outros methodos menos seguros poderão explicar resultados mais animadores com o soro anti-tetanico.

Para o soro anti-diphterico é mais facil e commum obter-se dosagem muito mais elevada, pelo methodo de Ehrlich.

A immunisação com toxoides deve ser continuada até que o soro do animal contenha 1 u.a. por cc., sem o que não se deve iniciar a injecção de toxina pura.

Não se conseguindo isto com os toxoides até a 5.ª ou 6.ª inoculação, desnecessario se torna o desperdicio de toxina, pois provavelmente o animal não será bom productor de anti-toxina. Isto verificamos com diversos cavallos, cujos soros não dosavam mais de 50 u.a. por cc. no final de immunisação e que haviam recebido maior numero de injecções de toxoides, até que o soro contivesse 1 u.a. por cc.

Com a immunisação anti-tetanica por meio de toxina pura, precedidas, as primeiras doses, de injecções de soro anti-tetanico, methodo mais demorado e que nos expõe mais a accidentes, conseguiamos valores mais ou menos identicos, isto é, soros cujo valor oscillava de 100 a 400 u.a. por cc. em sangria directa, nos animaes considerados bons productores.

Apresentamos estes dados para uma comparação entre os dois methodos.

Em conclusão, verifica-se que a vantagem do methodo de immunisação por meio de toxoides se apoia na economia que se faz de soro anti-tetanico (necessario para o outro methodo), na maior rapidez da immunisação e na possibilidade de se verificar, desde logo, quaes os animaes bons productores de anti-toxina.

Butantan, Novembro de 1924.

IMMUNISATION ANTI-TÉTANIQUE PAR LA MÉTHODE TOXOIDE-TOXINE

PAR LE

DR. J. LEMOS MONTEIRO

SOMMAIRE

La proportion de formol indiquée par Lövenstein et von Eisler pour la préparation de toxoide tétanique, 1,5 pour 1000, ne peut être utilisée à Butantan, car la toxine ainsi traitée, généralement de D. M. M. $<$ 0,0005 cc., reste encore toxique pour le cobaye aprés un séjour de plusieurs mois à l'étuve.

Pour obtenir la transformation rapide de la toxine en toxoide sans perte du pouvoir antigénique, l'Auteur employe une proportion de 5 ‰ de formol; aprés un séjour de 15 jours à l'étuve l'atténuation est en général complète (vérification avec le cobaye).

L'Auteur donne ensuite les protocoles d'immunisation d'un certain nombre de chevaux par cette méthode: les animaux qui, aprés avoir reçu 5 ou 6 injections de toxoide, ne présentent pas 1 u.a. dans leur serum, doivent être rejetés comme mauvais producteurs; lorsque le serum de l'animal contient 1 u.a. l'immunisation est continuée avec la toxine pure.

Cette méthode d'immunisation est plus rapide et expose à moins d'accidents que la méthode par toxine pure, précédée d'injection de serum anti-tétanique, lors des premières doses.

En relation au dosage final des serums obtenus, ces 2 méthodes sont équivalentes (méthode de dosage de Rosenau-Anderson).



AS DIFFERENTES PHASES DA AUTOLYSIS DO "BACILLUS ANTHRACIS"

PELO

DR. J. LEMOS MONTEIRO

(Com as estampas 17 e 18)

Em culturas velhas, de 30 a 40 dias, em gelose inclinada, de *bacillus anthracis*. pudemos pôr em evidencia a presença de um principio lytico [1], que agia sobre emulsões recentes de bacillos, reproduzindo a lyses em serie, e que se manifestava sem acção, como verificamos posteriormente, sobre emulsões de esporos.

Durante estes estudos, tivemos opportunidade de acompanhar as phases successivas da autolysis do *bacillus anthracis*. á medida que a cultura vae envelhecendo.

Julgamos não ser destituida de interesse a publicação dos nossos resultados.

A technica que usamos consistia no exame da cultura, emulsionada em agua physiologica, estendida em uma lamina e corada pelo methodo de Ziehl-Fontes-Giemsa.

Com esta technica de coloração, os esporos eram corados, logo que estivessem formados e os detalhes do bacillo e do fundo da preparação se evidenciavam da melhor forma.

N'uma cultura de carbunculo hematico em gelose inclinada, depois de certo tempo, 30 a 40 dias, (Fig. 1), começam a apparecer zonas claras, como assignalamos no nosso trabalho, parecendo haver, n'estes pontos, uma dissolução de bacillos.

Acompanhando a evolução da cultura desde as 24 horas de permanencia a 37° e depois de muitos dias e mezes de permanencia na temperatura do laboratorio, observam-se factos de bastante interesse para o estudo de biologia do bacillo.

Em 24 horas a cultura tem o aspecto normal caracteristico, como mostra a microphotographia da fig. 2.

No fim de 16 dias o aspecto da cultura é bem differente, como mostra a fig. 3. Notam-se já as formas bacillares, com o aspecto caracteristico das culturas influenciadas pelo bacteriophago: os bacillos ora se apresentam inchados, ora com perdas de substancia, onde tomam com menor intensidade a materia corante; no fundo da

---

(1) J. LEMOS MONTEIRO — *Brasil Medico* - N. 23, Junho 1922, pag. 297.

preparação já se observam detrictos bacillares, que se evidenciam pelo methodo de coloração empregado.

No fim de 31 dias, como mostra a microphotographia da fig. 4, o aspecto bacillar é identico, notando-se os detrictos bacillares.

No fim de 70 dias (fig. 5), os detrictos bacillares predominam na preparação, notando-se as formas bacillares grossas, influenciadas pela lysina.

No fim de 90 dias (fig. 6), o mesmo aspecto dos bacillos e grande abundancia de detrictos bacillares.

Em 115 dias, como se vê na microphotographia da fig. 7, ha uma modificação brusca do aspecto da preparação. Se observam raras formas bacillares, são muito raros os detrictos bacillares, e em seu lugar se vêm numerosissimos esporos.

A formação de esporos nas culturas conservadas na temperatura do laboratorio é mais ou menos lenta, conforme as condições do meio. A formação d'estas formas de resistencia de certos germes, os phenomenos intimos que a presidem, não são ainda perfeitamente elucidados.

Assim, pois, o desapparecimento quasi completo dos detrictos bacillares, tão abundantes na cultura ainda com 90 dias, e o apparecimento dos esporos na cultura com 115 dias, parece ser de grande significação.

Tem-se a impressão de que os esporos se formaram a custa dos detrictos bacillares, oriundos dos bacillos atacados pela lysina existente na cultura.

Verificamos que a lysina actua sobre os bacillos, e que não tem acção sobre os seus esporos.

Parece por isto que, quando na cultura a quantidade de lysina torna-se muito grande, ameaçando a vida da especie, os esporos, formas resistentes á lysina, se formam a custa dos detrictos bacillares, perpetuando assim a vida do germem.

Isto não acontece com os germes que são incapazes de produzir esporos; o augmento da lysina, sempre a custa dos novos bacillos atacados, poderá causar o aniquilamento da especie. No meio se encontrará a lysina, que irá actuar sobre novas emulsões recentes, reproduzindo, com maior ou menor intensidade, a lysis em serie.

Em lysados de bacillos Shiga + bacteriophago anti-Shiga, se observam após centrifugação abundante, e coloração apropriada, detrictos bacillares, cuja abundancia está em relação com a maior ou menor intensidade da emulsão lysada.

Estes residuos bacillares, como que cinzas dos bacillos, são geralmente transparentes, dando á emulsão o seu aspecto lysado, mas são presentes na cultura e podem ser verificados.

No caso do carbunculo, elles desapparecem quando os esporos se apresentam, parecendo que d'elles se originam.

Estas observações representam um apoio a uma das hypotheses que expandimos no nosso citado trabalho e de que o principio lytico parece proveniente do bacillo, encontrando-se quer nas culturas ou no organismo, quando as condições do meio são favoraveis á sua elaboração á custa dos proprios germes.

Outro facto que se pode deduzir d'estas observações é que

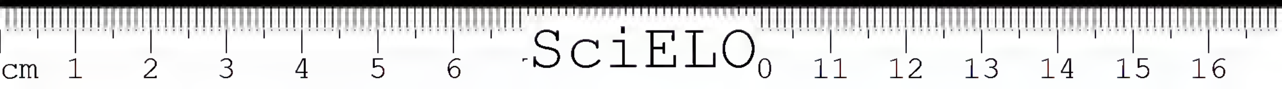
estas particulas ou detrictos bacillares apresentam vitalidade, pois que delles parece se originar um elemento vivo, o esporo.

Para os germes que não possuem esta propriedade de produzir esporo, os seus detrictos, em certas condições que não se pode perfeitamente determinar, podem dar origem a formas bacillares, semelhantes á especie original ou á ella differentes e lysino-resistentes. Parece ser este o motivo porque Paul Handuroy [2] e outros experimentadores têm observado o desenvolvimento de culturas secundarias nos filtrados conservados no laboratorio; a possivel passagem d'estes detrictos atravez os filtros, daria em resultado, se as condições são favoraveis, a cultura e turvação do filtrado.

A natureza d'este principio lytico que, incontestavelmente desempenha papel importante nos phenomenos de immunidade, embora producto de elaboração microbiana, ainda não está perfeitamente determinada; assim como o mechanismo intimo do phenomeno da lysis em serie, que permanece no terreno das hypotheses.

Butantan, Julho de 1925.

(2) Paul Handuroy — Comptes Rendus Soc. Biologie, vol. XCI, N. 31, 1924, pg. 1209.



LES DIFFÉRENTES PHASES DE L'AUTOLYSE DU "B. ANTHRACIS"

PAR LE

DR. J. LEMOS MONTEIRO

(Planche 17 et 18)

SOMMAIRE

Dans des cultures de b. anthracis sur gélose inclinée, datant de 30 à 40 jours, l'A. avait déjà mis en évidence un principe lytique agissant sur des émulsions récentes de bacilles, reproduisant la lyse en série, mais sans action sur les spores.

En émulsionnant des parcelles de cultures dans de l'eau physiologique et en colorant par la méthode Ziehl-Fontes-Giemsa, l'A. a pu suivre les phases de l'autolyse du B. anthracis depuis 24 heures de séjour à l'étuve à 37° jusqu'après plusieurs mois à la température du laboratoire.

Au 16ème. jour l'aspect est celui d'une culture influencée par le bactériophage et il y a déjà des débris cellulaires; jusqu'au 90ème. jour les débris sont de plus en plus abondants; au 115ème. jour l'aspect change brusquement, les formes bacillaires sont rares, les débris encore plus rares .et à leur place on voit de nombreuses spores.

La formation de ces spores et les phénomènes intimes y présidant ne sont pas bien connus, mais leur apparition coincidant avec la disparition des débris cellulaires paraît un fait très significatif à l'A. qui pense que les débris cellulaires, qui seraient ainsi des éléments doués de vitalité, donnent naissance, lorsque la lysine est assez abondante pour menacer la vie de l'espèce, aux spores, éléments lysino résistants; quant au principe lytique il semble provenir du propre bacille et se former à ses dépens quand les conditions sont favorables.

Les germes incapables de produire des spores peuvent au contraire être entièrement détruits; mais en certaines conditions, encore peu connues, les débris cellulaires de ces germes peuvent donner naissance à des formes bacillaires semblables ou non à l'espèce originaire, ce qui expliquerait le développement de cultures secondaires dans des filtrats conservés au laboratoire observé par quelques auteurs.

La nature du principe lytique, de rôle certainement important dans l'immunité, ainsi que le mécanisme de la lyse en série demeurent encore dans le terrain des hypothèses.



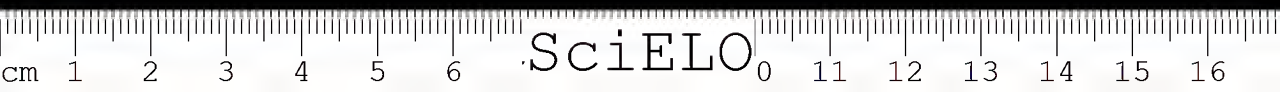
Fig. 1



Fig. 2



Fig. 3


SciELO

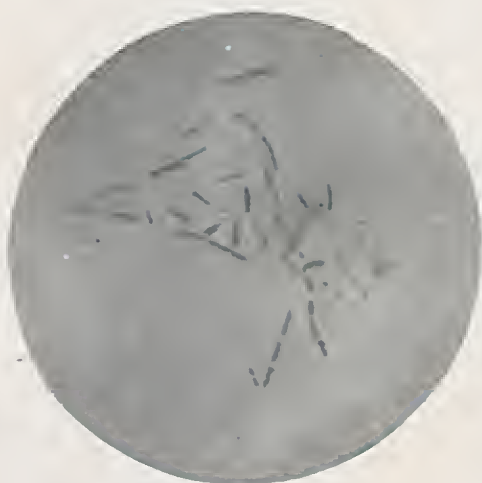


Fig. 4

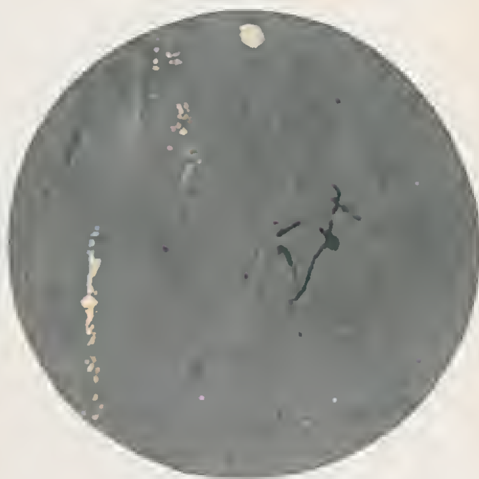


Fig. 5



Fig. 6

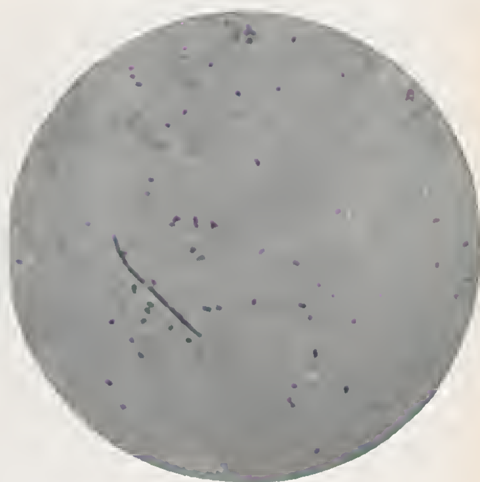
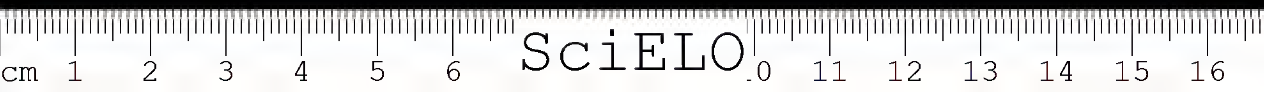


Fig. 7


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15 16

Immunização *per os* contra o B. de Shiga

CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DA NATUREZA DA IMMUNIDADE

PELO

DR. EDUARDO VAZ

(ASSISTENTE DO INSTITUTO)

Numa memoria de 1908, *Shiga* [1] expõe os resultados de três annos de trabalho sobre dysenteria, visando o combate aos fócos endemicos que existem no Japão.

Levado pela premencia de vaccinar, procurára elle todos os meios de attenuar o poder irritante, mesmo necrosante da toxina dysenterica, impecilho sério á vaccinação sub-cutanea.

Não podendo remover o obstaculo, o pesquisador japonês torneou-o. Baseado no augmento de resistencia á intoxicação dysenterica, que conseguira conferir a coelhos, por ingestão de bacillos mortos, applicou o methodo ao homem. Foram bons os resultados. Chamou de local ou histogenica a immunidade obtida por esse processo.

Em que se fundou esta idéa, não se sabe bem. Não era razoavel ser illação das suas experiencias, em que a prova de immunidade constou de inoculação venosa de toxina.

Provavelmente foi reportada dos trabalhos de *Wassermann* e *Citron* [2 e 3], de *Loeffler* [4], em que se encadeiam bem as idéas de vaccinação *per os*, immunização local enterica, e immunidade do intestino, a elle restricta, independente dos factores da geral.

Do estudo simultaneo desses trabalhos, muito nitida fica a idéa de que a experiencia domina a imaginação, de que a experiencia corrige hypotheses, e orienta o pesquisador.

É bem interessante de ver-se quão diversos foram os caminhos trilhados.

Wassermann e *Citron* [2], levados pela idéa, imperante na época, de que immunidade era anticorpo, tinham em mira estabelecer qual a via de introducção de antigenio, no organismo, que maior teor em anticorpos produzisse. Verificaram que, numericamente, não havia egual repartição dos anticorpos pelos orgãos. Em superioridade sempre se mostrava aquelle que, em primeiro logar, tivesse soffrido o contacto do antigenio, em estado mais integro, em quantidade maior.

Esta verificação induzia a que se utilizasse, como via de ingresso da substancia vaccinante, aquella que mais promptamente attingisse o orgão, o ponto vulneravel do organismo, variavel, está

visto, com as affinidades, as predileções microbianas. Fortalecia-se com mais anticorpo o ponto em que o germe deveria actuar, ou por onde, habitualmente, faz a sua penetração no organismo. Era a idéa de immunização local, pelos factores da immunidade geral.

Destas cogitações, em que tão bem as idéas se associam, surgiu uma razoavel explicação para a immunidade dos portadores de B. typhico, pela immunização provocada ou espontanea do intestino, porta habitual de entrada de tal germe.

Depois (3), sequencia desses estudos, elles relatam casos em que, a despeito da falta de anticorpos no local e no sangue, foi obtida a immunidade. Dahi a affirmativa — ha uma immunidade local, do tecido, que independe da geral, exteriorizada por anticorpos.

A esta mesma idéa chegou *Loeffler*, fazendo rota diversa.

De experiencias comparativas sobre o valor das vias sub-cutanea, peritoneal e buccal, na immunização de ratos do campo contra typhi-murio, conseguiu, tão somente, por esta via, immunidade, com tratamento reiterado por germes mortos. Ausencia de agglutininas, ausencia de anticorpos bacteriolyticos. Meditando sobre os factos, pensou decorresse a immunidade de factores ainda desconhecidos, e mais ainda, que a superficie interna do canal digestivo, previamente banhada com bacillos mortos, adquirisse a propriedade de impedir a penetração do bacillo na parede intestinal (acção cellular, cellulas epitheliaes ou leucocytos).

De tal modo interpretando as suas experiencias, lançou a idéa duma nova immunidade, uma immunidade do orgão, vestibulo da infecção.

Com visão larga, deixou entrever que a dysenteria, o cholera, o typho, teriam um elemento de combate, nesta immunidade, em que muito importa, mais do que tudo, o auxilio ás forças defensivas, collocadas nos pontos avançados.

Como era differente a mira destes homens ao encetar as suas experiencias!

Naquelle tempo, embóra sustentadas pela prova de laboratorio, estas idéas não poderiam vingar, pois, a recalcá-las, estava a noção de anticorpo, expressão unica de immunidade.

Aqui e acolá, com fitos differentes, foram se realizando experiencias de immunização *per os*. Dentre ellas, sobresaem as de *Kutscher* e *Meinicke* (4), em 1906, em que *a* ingestão de paratypho protege cobaio, em 90 % dos casos contra paratypho, em 66 % contra typhi-murio, em 0 % contra typho.

Ingestão de typhi-murio protege contra typhi-murio em 100 %, contra paratypho em 100 %, contra enteritis paratyphi em 100 %.

Ingestão de typho não protege contra typho, typhi-murio e paratypho.

Esta citação é necessaria para que esta experiencia não fique no olvido, em favor da originalidade das de *Besredka* e Mlle. *Bassèches* (5).

Sem o desejo de alongar a noticia dos estudos que põem marco importante na historia da immunidade local, ainda cabe aqui logar para referencia a *Dopter* (6), que conseguiu immunizar camondon-

gos contra a dysenteria, por via digestiva. Immunidade solida á prova infectuosa, por via subdermica.

Da objecção de *Brückner* (7) a uma interpretação de *Lippmann* (8), ha occasião para se enveredar, logicamente, para o caminho da nova concepção de immunidade, conforme as idéas de hoje.

Lippmann (8) conseguiu vaccinar camondongos, por ingestão de dóses, progressivamente crescentes, de toxina botulinica, contra dóses 10 vezes a minima mortal, pela bocca. Por via sub-cutanea nem a minima mortal; os camondongos morreram com os testemunhas. *Lippmann* diz que é possivel, por uma immunidade da porta de entrada, proteger pura e seguramente o intestino contra um verdadeiro veneno bacteriano, sem que resulte uma immunidade geral.

A idéa accentua-se, e resiste ao que objecta *Brückner* (7), partindo da interpretação de suas proprias experiencias com B. paratypho B. Observando que os animaes, vaccinados pela bocca, resistiam á prova por via sub-cutanea concluiu que a immunidade é geral e não local, não se tratando de immunidade tissular.

Em verdade, a immunidade é geral, porque o animal resiste á prova geral. Poderia existir, então, uma immunidade especifica, adquirida, sem anticorpos? Sem duvida. O facto existia, mas a theoria não o explicava, elle não se enquadrava na immunidade geral, cuja exteriorização se faz á custa de anticorpos.

Impunha-se a explicação da nova immunidade.

Associaram-se logo as idéas de vaccinação local do orgão, de natureza local, visto ter sido o facto observado na vaccinação *per os* contra germe enterotropo. Mas, por que a organo-immunização, restricta, dá immunidade geral, comprovada por ulterior inoculação por via sub-cutanea?

A explicação, trouxe-a *Besredka*. Estas experiencias foram retomadas por um feliz acaso. Em falta de camondongos não experimentados ainda com B. paratypho B., *Besredka*, tendo necessidade de experimentar o poder pathogenico de algumas amostras por via sub-cutanea, utilizou camondongos que haviam resistido á prova por ingestão, um mês antes. A immunidade de todos á prova sub-cutanea fê-lo retomar o assumpto, completá-lo, ampliá-lo, dando-lhe feição nova, trazendo o laço que deveria unir a immunidade local e a geral com e sem anticorpo.

A immunidade é geral, não pelo mecanismo da immunidade geral, mas pela immunização local.

A immunidade é geral para os seus effeitos, é local por sua origem.

Immunidade geral por immunização local.

Para *Besredka* (9), a immunidade local processa-se em o orgão sensivel que cada animal possue a cada germe. No seu dizer: «cada virus tem seu orgão, cada orgão sua immunidade».

A immunidade local resulta da vaccinação do orgão receptivo, de modo a collocar o animal a salvo de uma infecção pelo germe contra o qual foi vaccinado. Immunizado o orgão sensivel, o orgão capaz de receber e acommodar o germe, offerecendo-lhe condições de virulencia, *ipso facto* está o germe sem guarida, incapacitado de agir, obrigado a luctar contra a nova disposição das cellulas suas

preferidas, a se defender do ataque dos leucocytos, a resistir ao natural poder bactericida dos humores. Bem se compreende que da introducção do germe, por qualquer via que seja, não decorra a infecção. Ha uma immunidade geral no seu effeito, por uma immunidade local na sua origem, proveniente da organo-immunização.

Partiu *Besredka* da organotropia, da infecção localizada á immunidade do orgão.

Na mesma sequencia, faremos o nosso estudo; organo-tropismo, organo-immunização, immunidade geral por immunização local.

* * *

O B. de Shiga é enterotropo. Por qualquer via que seja inoculado, elle é pathogenico, agindo no intestino, lesando de preferencia o cecum. O intestino, neste caso particular, não é a simples porta habitual da infecção, mas é a séde do processo morbido, o orgão sensivel, o orgão receptivo.

Esses conhecimentos já estão integrados em sciencia. Não obstante, para afastar qualquer duvida, suscitada por algumas experiencias constantes da literatura, repetimo-las, para, com bastante segurança, partirmos ao estudo das outras premissas.

Tomamos 3 amostras differentes de «*Bacterium dysenteriae, Shiga*», com as quaes conseguimos determinar a infecção a coelhos, tanto por via buccal, mesmo com dóse pequena, como por via venosa, peritoneal, sub-cutanea.

Mostrou-se differente a actividade das tres amostras, sendo assim necessario determinar as dóses seguramente mortaes, de accordo com a via de introducção, para cada amostra, para bom julgamento das provas de poder anti-infectuoso, na verificação da immunidade.

Pudemos nos alistar entre os que affirmam não ser o dysenterico um bacillo septicemico.

Como prova do que ficou dito, registamos alguns dos nossos protocollos.



QUADRO N. 1

EXPERIENCIAS COM GERME VIVO

COELHO		INOCULAÇÃO				OBSERVAÇÕES	RESULTADO		
Exp. num.	Peso	Data	Dóse	Via	Amostra		SYMPTOMAS	Morte	NECROPSE
1	1.610	23-11-23	1 alça	sub. cut.	N.º 4 Fujimoto	24-1-1.ª hem = 0 25-1-2.ª hem = 0 Peso: 1.550	26-11 - manhã diarrhéa, par. m. post. A' tarde: tetraplegia. Peso: 1.190 grs.	26/27-11	Lesões intestinaes dysentericas. Paralysia vesical.
2	1.910	10-IV-23	500 milhões	»	»	....	11 - IV - par. m. post.	16-IV-23	Lesões intestinaes dysentericas. Paralysia vesical.
3	1.380	2-III-23	1 tubo	buccal	»	....	5-III - par. m. post. Peso 1.220. 6-III - peso 1.180. 7-III - diarrhéa. Peso 1.150	7-III-23 á tarde	Lesões intestinaes dysentericas.
4	1.610	8-III-23	»	»	»	....	12-III - par. m. post. conjunctivite, peso 1250. 13-III - diarrhéa. Peso 1.150	13-III-23 ás 12 h.	Lesões intestinaes dysentericas.
5	1.530	5-V-23	1.000 milhões	venosa	»	....	7-V - Peso 1.300	8-V-23	Lesões intestinaes dysentericas.
6	1.455	19-III-21	500 milhões	»	»	....	20-III-21 á tarde par. m. ant. e paresia dos posteriores. 21-III-21 - paral. vesical. 22-III - tetraplegia, dyspnéa.	22-III-21	Lesões intestinaes dysentericas. Conteudo semi-liquido, sanguinolento em alguns pontos. Mesenterio com vasos engorgitados.
7	2.250	5-IV-23	1 alça	Peritoneal		....	7-IV-23 - diarrhéa. Peso 2.115.	7,8-IV-23	....
8	1.270	12-V-23	1.500 milhões	sub. cut.	N.º 15 Ficker	....	18-V - diarrhéa. Peso 1.190 gr.	19-V-23	Lesões intestinaes dysentericas. Conteudo intestinal liquido.
9	1.575	16-VII-23	1 tubo	»	»	....	17-VII - diarrhéa.	17-VII-23	Lesões intestinaes dysentericas. Conteudo intestinal liquido.

QUADRO N. 1
EXPERIENCIAS COM GERME VIVO

(Continuação)

COELHO		INOCULAÇÃO				OBSERVAÇÕES	RESULTADO		
Exp. num.	Peso	Data	Dóse	Via	Amostra		SYMPTOMAS	Morte	NECROPSE
10	1.750	13-VI-23	3 tubos	buccal	»	....	Sem symptomas.	15-VI-23	Lesões intestinaes dysentericas.
11	1.270	18-VII-23	4 tubos	»	»	....	31-VII - paralysia.	31-VII-23	Lesões intestinaes dysentericas.
12	2.800	21-VII-23	10 tubos	»	»	....	Sem symptomas.	12-IX-23	Pequenos fócos hemorrhagicos circumscriptos.
13		13-X-23	1/5 de cultura	sub. cut.	N.º 2 I. O. C. 1	....	17-X-23 - diarrhéa e tetraplegia.	17-X-23	Lesões intestinaes dysentericas.
14	1.770	2-X-23	1 tubo	buccal	»	....	4-X - par. m. post. diarrhéa. Peso 1.515.	5-X-23	Lesões intestinaes dysentericas. Coccidiose hepatica.
15	1.820	2-X-23	4 tubos	»	»	....	4-X - diarrhéa. Peso 1.635 grs. 5-X - paralysia.	6/7-X-23	....
16	1.770	31-VIII-23	1500 milhões	venosa		....	....	2-IX-23	Lesões intestinaes dysentericas.
17	2.380	11-IX-23	»		»	1.ª hem. 1/2 h. depois negativa. 2.ª hem. 1 h. depois — neg.	....	12-IX	Lesões intestinaes dysentericas. Figado e rim degen. gorda.
18	1.110	16-VII-25	1000	sub. cut.	Fujimoto	....	19-VII - Não foi observado. 20-VII - amanheceu tetraplegico com forte diarrhéa, par. ves.	21-VII-25	Lesões intestinaes dysentericas.

Na interpretação dessas nossas experiencias, houve accordo com *Besredka*, quanto á prestancia do bacillo dysenterico ás experiencias de immunização enterica, com o fito de obter immunidade local.

Iniciamos, assim, os ensaios de immunização.

Mãos á obra, e, cedo, veiu ensejo de verificar que a vaccina de germe morto não é destituida de toxicidade ao coelho, como concluira *Kanai* (10). *Besredka* havia já referido o facto, mas de modo grosseiro: «Grandes dóses matam, pequenas nada causam, a julgar pela falta de symptomas. Tal insensibilidade é, apenas, apparente, visto como ellas produzem lesões ligeiras do intestino, pequenos fócos hemorrhagicos.»

Muitos dos nossos animaes succumbiam, no emtanto, a dóses pequenas, mesmo fraccionadas. A questão, veja-se adeante, não estava restricta á dose, mas á resistencia maior ou menor dos animaes, e sim tambem, e principalmente, á toxicidade da amostra de germe.

Com a amostra Fujimoto, realizamos 17 experiencias de ingestão de germe morto. Succumbiram antes da prova de immunidade — 7; após a prova — 7. Apenas 3 sobreviveram á vaccinação e á prova anti-infectuosa. Morte por intoxicação — 41.17 %.

Por falta de immunidade, possivelmente alliada a certo grão de intoxicação — 41,17 %. Sobrevivencia — 17,64 %.

Com a amostra 2 da collecção do Instituto Vital Brazil, proveniente do Instituto Oswaldo Cruz (I.O.C.1), montam a 21 os ensaios de immunização, com os seguintes resultados: 14 coelhos mortos antes da prova de immunidade, desses necropsiamos 5, verificando coccidiose hepato-intestinal em 4, a par, em 3, com lesões intestinaes dysentericas. Houve sempre quéda sensivel de peso, salvo no 5.º dos necropsiados, em que a morte se deu 24 horas após a 2.ª inoculação de dóse relativamente forte, verificando-se degeneração hepatica e forte congestão do intestino delgado.

A prova de immunidade foi effectuada em 7, succumbindo um de accidente, no acto da inoculação, e outro no dia seguinte. Sobreviveram 5, sendo 3 a duas provas com prasos differentes, com a amostra homologa e com a Fujimoto.

Sommando as causas desfavoraveis, como seja o estado organico dos animaes portadores de coccidiose, verificada apenas em alguns, a dóse excessiva de outro, com os casos de intoxicação pura pelo germe, temos o numero de 66 %.

Assim, esta amostra que, á primeira vista, sem estudo meditado dos protocollos das experiencias, parece muito toxica e imprestavel para a immunização sem riscos, é, no emtanto, em dóses proporcionalmente maiores, menos toxica que a Fujimoto, e mais immunizante.

De 7, experimentados com dóses mortaes de dysenterico, 5 adquiriram immunidade, e um succumbiu a accidente. Mesmo contando este caso como se fôra de falha, a percentagem de sobrevivencia é melhor que a do Fujimoto — 33,33 %.

A amostra I.O.C.1 é mais manejavel que a japonesa: menos toxica, mais immunizante. O estudo destas duas circumstancias parece indicar o caminho a seguir, no momento, para melhor exito da immunização de coelhos, por via buccal, contra a dysenteria.

O encontro de amostra de toxicidade baixa e poder immunizante alto é capital, para progredir mais e muito.

Com uma terceira amostra, de proveniencia allemã, enviada por *Ficker* (15 da col. I. Vital Brazil), com 7 experiencias, a conclusão não foi favoravel, pois 5 animaes succumbiram antes e 2 depois da prova anti-infectuosa.

Como que a frisar mais, insistimos na necessidade de estabelecimento de dóses que vaccinem seguramente, sem o risco de intoxicarem. É ponto importante a procura de amostra em que os dois poderes se distanciem bem, pequeno o toxico, grande o immunizante.

Neste trabalho, trazemos, apenas, as experiencias mais concludentes, para o ponto, agora visado, e as experiencias novas, sem registo ainda, deixando de parte grande numero que interessa a outros pontos, não tratados aqui, e ventilados em trabalhos anteriores (11 e 12).

No quadro 2, contamos com as experiencias * em que se obteve immunidade, e algumas em que tal não se conseguiu, mas que têm importancia para o estudo da natureza da immunidade.

* Immunização com culturas em agar, de 24 hs. a 37°, e suspensas em soluto physiologico esteril, mortas 1 h. a 60°.



QUADRO N. 2

COELHO		IMMUNIZAÇÃO			OBSERVAÇÕES	PROVA DE IMMUNIDADE COM GERME VIVO					RESULTADO
N.	PESO	DATA	AMOSTRA	DÓSE		DATA	AMOSTRA	VIA	DÓSE	Peso do coelho	
1	1.650 grs. 1.620 » 1.630 » 1.580 »	28-III-21 30-III-21 1-IV-21 3-IV-21	Fujimoto	1000 milhões 2000 » 3000 » 4000 »	23-IV - Poder agglutinante nullo. Poder anti-toxico (V. protocollo N. 1).	23-IV-21	Fujimoto	buccal	6000 milhões	1270 grs.	24-IV-25 - Amanheceu morto. Necropse - lesões int. dysentericas.
2	1.820 » 1.740 » 1.755 » 1.685 »	28-III-21 30-III-21 1-IV-21 3-IV-27	Fujimoto	1000 » 2000 3000 4000	23-IV - Poder agglutinante nullo. Poder anti-toxico muito pequeno. (V. protocollo N. 1).	23-IV-21	Fujimoto	buccal	6000 »	1155 »	24-IV - par. m. post. Á tarde tetraplegia. A' 25-IV - morte. Necropse - lesões int. dysentericas.
Test. I						10-IV-23	Fujimoto	buccal	3000 »	1820 »	15-IV-23 - morte.
3	1.750 » 1.710 » 1.760 » 1.700 »	28-III-21 30-III-21 1-IV-21 3-IV-21	Fujimoto	1000 2000 3000 4000	23-IV - Poder agglutinante nullo. Poder anti-toxico nullo (prot. 1).	23-IV-21	Fujimoto	venosa	500 »	1535 »	A 25-IV - par. m. post. A' tarde-tetraplegia, dyspnéa, par. vesical. A 26, sacrificado a chloroformio, para tentativa de insulamento do germe do intestino.
4	1.650 » 1.615 » 1.700 » 1.605 »	28-III-21 30-III-21 1-IV-21 3-IV-21	Fujimoto	1000 2000 3000 4000	23-IV - Poder agglutinante nullo e anti-toxico grande (V. protocollo 1).	23-IV-21	Fujimoto	venosa	500 »	1360 »	A 13-VI-21 - morte.
Test. II						19-III-21	Fujimoto	venosa	500 »	1455 »	20-III-21 - A' tarde - par. m. ant. e paresia dos post. 21-III-21 - tetraplegia, dyspnéa, morte.
5	1.705 » 1.640 » 1.510 » 1.485 »	14-IX-23 16-IX-23 18-IX-23 21-IX-23	I. O. C. 1	700 » 1400 2800 » 5600 »	16-X - Poder agglutinante nullo.	6-X-23	I. O. C. 1	buccal	4 tubos de cultura em agar inclinada. 24 hs. 37°.	1520 »	A 27-X - morte. Peso 1080 grs.
6	1.780 » 1.720 » 1.650 » 1.650 »	14-IX-23 16-IX-23 18-IX-23 21-IX-23	I. O. C. 1	2100 » 4200 » 8100 » 10500 »	1-X-23 - Poder agglutinante nullo. Peso 1.750 grs.	6-X-23	I. O. C. 1	buccal	4 tubos de cultura em agar inclinada.	1600 »	20-X - morte. Peso 1.080. Necropse - pequenos focos hemorrhagicos do intestino delgado.
Test. III						2-X-23	I. O. C. 1	buccal	1 tubo	1770 »	A 4-X-23 - diarrhéa. A 5 paralysia. 6/7 morte.

CONTINUAÇÃO DO QUADRO N. 2

COELHO		IMMUNIZAÇÃO			OBSERVAÇÕES	PROVA DE IMMUNIDADE COM GERME VIVO					RESULTADO
N.	PESO	DATA	AMOSTRA	DÓSE		DATA	AMOSTRA	VIA	DÓSE	Peso do coelho	
Test. IV						2-X-23	I. O. C. 1	buccal	4 tubos	1820	1-X - par. m. post., diarrhéa. A 5-X - morte. Necropse - lesões int. dys., coccidiose.
7	1.890 grs. 1.860 » 1.820 » 1.770 »	15-XI-23 17-XI-23 20-XI-23 21-XI-23	I. O. C. 1	2000 milhões 6000 » 6000 » 6000 »	18-XII-23 - Poder agglutinante nullo. Poder anti-toxico grande. (prot. 2)	20-XII-23 18-I-21	I. O. C. 1 Fujimoto	sub cut. » »	2/5 cultura 1/10 cultura		4-II-24 - morte.
8	1.610 » 1.510 » 1.610 » 1.605 »	15-XI-23 17-XI-23 20-XI-23 21-XI-23	I. O. C. 1	2000 » 6000 » 6000 » 6000 »	18-XII - Poder agglutinante nullo. Poder anti-toxico grande. (Prot. 2)	20-XII-23 18-I-21	I. O. C. 1 Fujimoto	venosa »	2/5 cultura 1/10 cultura		1-II-21 - Morte. Pequenos fócos hemorrhagicos intestinaes.
9	1.795 » 1.815 » 1.850 » 1.685 »	15-XI-23 17-XI-23 20-XI-23 21-XI-23	I. O. C. 1	2000 6000 » 6000 » 6000 »	29-XI - par. m. post. Regressão em poucos dias. Peso 1660. 18-XII - Poder agglutinante nullo. Poder anti-toxico grande (Prot. 2).	20-XII-23	I. O. C. 1	buccal	2/5 cultura	1551	Morte immediata por accidente. Asphyxia por inoculação tracheal.
Test. V						20-XII-23	I. O. C. 1	sub cut.	2/5 cultura	1300	21-XII - Morte.
Test. VI						13-X-23	I. O. C. 1	» »	1/5 cultura		17-X - diarrhéa. Tetraplegia. Morte. Lesões int. dysentericas.
Test. VII						18-I-21	Fujimoto	» »	1/10 cultura		21-I-24 - diarrhéa - esboço de paral. 22-I-24 - par. m. post. 23-I - morte.
10	1.785 » 1.780 » 1.775 » 1.800 »	1-I-21 6-I-24 8-I-29 10-I-24	I. O. C. 1	1500 » 3000 » 5000 » 10000 »		29-I-21	Fujimoto	venosa	1/10 cultura	1100	1-II-24 - Tetraplegia. Morte. Necropse - lesões intestinaes - par. vesical. Cult. bile positiva.
11	1.850 » 1.750 » 1.800 » 1.720 »	21-II-21 23-II-24 25-II-21 27-II-21	I. O. C. 1	1000 » 2000 » 1000 » 8000 »	A 18-III-21 - agglut. nullo. Poder anti-toxico algum (Protoc. 3).	18-III-24	Fujimoto		500 milhões	1400	A 12-IV-24, peso 1650 grs. bom. A 29-IV-21 bom.
Test. VIII	1.415 »					19-III-21	Fujimoto		500 milhões	1155	A 21-III-21, á tarde, par. m. ant. e paresia dos post. 22-III accentuação da paresia dos post. Peso 1330 grs. dyspnéa, morte á tarde. Lesões intestinaes dysentericas.

CONTINUAÇÃO DO QUADRO N. 2

COELHO		IMMUNIZAÇÃO			OBSERVAÇÕES	PROVA DE IMMUNIDADE COM GERME VIVO					RESULTADO
N.	PESO	DATA	AMOSTRA	DÓSE		DATA	AMOSTRA	VIA	DÓSE	Peso do coelho	
12	1.675 grs	16-VII-23	Ficker	5000 milhões	A 31-VII-23 indice agglutinante 1:200.	1-VIII	Fujimoto	buccal	1 tubo	1100	27-VII peso: 1525 grs. - 29-VII bom - 8-VIII - peso 1270. par. m. post. - 10-VIII - peso 1205 gr. - 11-VIII morte.
13	1.890 » 1.910 » 1.835 » 1.830 »	7-III-21 9-III-21 11-III-21 13-III-21	Ficker	2000 » 4000 » 6000 8000 »	A 2-IV-21, poder anti-toxico nullo.	2-IV-21	Fujimoto	venosa	500 milhões	1175	3-IV-21 - morte. Necropse: lesões intestinaes dysentericas. Degenerescencia hepatica.
14	1.200 » 1.050 » 990 »	11-V-25 16-V-25 18-V-25	Fujimoto	2000 » 4000 » 6000 »	19-V - Peso 910. 20-V - Peso 860.						21/22-V - Morte.
15	920 » 800 » 660 »	11-V-25 16-V-25 18-V-25	Fujimoto	2000 » 4000 » 6000	19-V - Peso 630.						20-V-25 as 12 horas morte. Lesões intestinaes dysenterica.
16	1.200 » 1.050 » 990 »	11-V-25 16-V-25 18-V-25	Fujimoto	2000 » 4000 » 6000 »	19-V - Peso 850. 20-V - Peso 910.						1-VI-25 - Morte.
17	980 » 900 » 840 »	11-V-25 16-V-25 18-V-25	Fujimoto	2000 » 4000 » 6000 »	19-V - Peso 760. 20-V - Peso 780.						29/30-V - Morte. Degenerescencia hepatica. Coccidiose.
18	1.160 » 1.050 » 1.020 »	11-V-25 16-V-25 18-V-25	Fujimoto	2000 » 4000 » 6000 »	19-V - Peso 860. 20-V - Peso 900.	7-VI-25	Fujimoto	buccal	$^1/_2$ tubo	1055	7-VII-25 - Morte.
19	1.300 » 1.050 » 1.000 »	11-V-25 16-V-25 18-V-25	Fujimoto	2000 » 4000 » 6000 »	19-V - Peso 1000. 20-V - Peso 1000. 7-VI-25 sangria exploradora. Poder neutralizador (V. protoc. 4). A 15-VIII nova sangria - P. neutralizador (V. prot. 5)	7-VI-25 15-VII-25	Fujimoto »	buccal sub cut.	$^1/_2$ tubo cult. 1000 milhões	1050 1110	
Test. IX						28-IV-25	Fujimoto	buccal	$^1/_2$ tubo	1500	30/31-V - Lesões int. dysentericas.
Test. X						15-VII-25	Fujimoto	sub cut.	1000 milhões	1030	19-VII - Não foi observado. 20-VII - amanheceu tetraplegico, com forte diarrhéa e paralysia vesical. Morte. Necropse: lesões int. dysentericas.

No estudo particularizado de cada experiencia do quadro precedente, vamos tirar os fundamentos de conclusões do nosso trabalho experimental.

A experiencia n. 1 nos ensina que a immunização *per os*, com cultura morta da amostra Fujimoto, não é sem inconveniente para o coelho, mesmo com dóses pequenas, intervalladas de 48 horas, a julgar pela quéda de peso. Em 26 dias, cahiu de 1.650 grs. a 1.270. Nesse tempo não continha o seu sangue propriedades agglutinantes e anti-toxicas, (exp. n. 3 do protocollo n. 1). Experimentado com dóse segura mortal (test. I do mesmo quadro) da amostra homologa, por via buccal, succumbiu em menos de 24 horas, com lesões intestinaes dysentericas. Morte por infecção dysenterica no curso de intoxicação da mesma natureza. Nem augmento da resistencia local enterica, nem immunidade geral, coincidindo com falta de anticorpos (agglutininas e anti-toxinas).

A experiencia n. 2, realizada em condições identicas ás da n. 1, falla de intoxicação pela perda de 715 grs., mostra ausencia de poder agglutinante e algum poder neutralizador da toxina dysenterica (retardamento da morte do coelho 4 do prot. n. 1). Resistiu 48 hs. á prova anti-infectuosa, por via buccal, analoga á do n. 1. Com 24 hs., installou-se paralysia dos membros posteriores, que rapidamente attingiu os quatro membros. Á necropse, lesões intestinaes dysentericas. Falta de resistencia do intestino, via de introducção do germe vivo. Falta de immunidade geral, coincidindo com a propriedade do sòro, quando misturado a toxina, de retardar, apenas, a morte.

A experiencia n. 3 não revela, como as precedentes, quéda sensivel de peso. Com 26 dias, poderes agglutinante e anti-toxico nullos (exp. 2 do prot. 1). Prova de immunidade por via venosa, com amostra homologa á da vaccinação (Fujimoto), em dóse segura mortal (test. II — quadro 2.). Com 48 hs., phenomenos de intoxicação nervosa: paralysia dos membros posteriores, mais tarde tetraplegia, dyspnéa, paralysia vesical. No dia seguinte, sacrificado para tentativa de insulamento do germe do intestino. Ainda neste caso a coincidencia já referida.

A experiencia 4, nas mesmas condições que a antecedente, concorda quanto á inexistencia de agglutininas. No emtanto, o sòro do coelho possue poder de neutralizar *in vitro* toxina dysenterica (exp. n. 1 do prot. n. 1). Existencia de anti-toxina; consecução de immunidade contra inoculação de dóse mortal da amostra Fujimoto, por via venosa. Emquanto que o testemunha (II do quadro 2), mais pesado, dentro de 24 hs. apresentou paralysia dos membros anteriores, paresia dos posteriores, e, em 48 hs., tetraplegico, dyspneico, succumbiu, o coelho entero-vaccinado sobreviveu 51 dias, sem nenhum symptoma da syndrome.

A experiencia n. 5 pertence a outra serie de immunização, agora com a amostra 2 da collecção do I. Vital Brazil, com a indicação original de Instituto Oswaldo Cruz n. 1 (I.O.C.1). Com 22 dias perda pequena de peso, poder agglutinante nullo. O neutralizador não foi feito por falta de coelhos. Com 4 tubos de germe vivo (am.I.O.C.1), *per os*, sobrevivencia de 21 dias, sem symptoma, ao

passo que o testemunha, mais pesado (test. III q. 2), com 1 tubo, 48 hs. após teve diarrhéa, 72 hs. — paralysia, e morte na noite do 4.º para o 5.º dia. O testemunha de 4 tubos, 300 grs. mais pesado (test. IV, q. 2), em dois dias paralytico e diarrheico, succumbiu ao 3.º, com lesões intestinaes dysentericas. Immunidade comprovada.

Na experiencia n. 6 as dóses vaccinantes são duas vezes mais fortes que na anterior. O animal supportou bem, sem mostras de sensibilidade, perda quasi nenhuma de peso. Com 20 dias, poder agglutinante nullo. Não se procurou o anti-toxico (falta de coelhos). A prova de immunidade foi identica á do n. 5. Sobrevivencia, sem symptomas, por 14 dias. Tanto este como o 5 perderam muito peso a contar da data da inoculação, prova da lucta contra tão formidavel (4 tubos de cultura viva) dóse de germe activo, toxico. A necropse demonstrou, aqui e acolá, pequenos fócos circumscriptos de hemorrhagia, sem outra lesão. Immunidade. Morte por intoxicação massiça.

As experiencias 7 e 8 nos fornecem prova de immunidade solida, com ausencia de agglutininas e presença de poder anti-toxico (prot. 2), 38 dias do inicio da immunização, 24 do termino. A prova de immunidade foi por via sub-cutanea para o 7 e venosa para o 8, com a amostra homologa (I.O.C.1) em dóse segura mortal (tests. V e VI, quadro 2).

Decorridos 28 dias, nova prova, pelas mesmas vias, com Fujimoto, em dóse mortal. O 7 sobreviveu 15 dias, sem symptomas; o 8 durante 13 dias á inoculação venosa, sem symptomas, emquanto o testemunha (VIII q. 2), com a mesma dóse, por via sub-cutanea, em 3 dias se apresentou com diarrhéa e esboço de paralysia, para com quatro dias completar a syndrome com a classica paralysia dos membros posteriores. No 5.º dia, morte. Estas duas experiencias chamam a attenção para a solidez da immunidade á amostra homologa, a heterologa, mais activa. Note-se, em concordancia com poder neutralizador do sôro.

A experiencia 9 obedeceu ao mesmo plano das duas ultimas. Passavam 5 dias da ultima inoculação, quando o animal se apresentou com paralysia dos membros posteriores. Houve regressão rapida, em poucos dias. No dia que os outros foram sangrados, para procura dos anticorpos, elle tambem. Ausencia de agglutinina, presença de poder neutralizador *in vitro*. Dois dias após, no acto da inoculação de prova, que deveria ser por via buccal, o animal morreu de accidente. Asphyxia por introducção da canula na trachéa. Optima experiencia perdida.

O coelho n. 10, immunizado com I.O.C.1, não resistiu á prova com Fujimoto por via venosa. Em 4 dias tetraplegia, morte. Lesões intestinaes, paralysia vesical. Cultura da bile-positiva.

Na experiencia 11, com a mesma amostra, em dóses menores, o coelho perdeu de peso 450 grs., em 26 dias. Quanto aos anticorpos — ausencia de agglutininas, presença de algum poder anti-toxico (veja-se o protocollo 3). Immunidade solida a dóse mortal, pela veia, de Fujimoto (test. VIII q. 2). Decorridos 25 dias da prova, o peso subiu a 250 grs. Depois de 42 dias deixou de ser observado. Nesta experiencia, onde a coincidencia que vimos notando não é

tão flagrante, seria possivel admittir com *Besredka* um papel ao orgão electivo do germe, sem, no emtanto, provâ-lo.

As experiencias 12 e 13 foram realizadas com a amostra Ficker (n. 15 da col. I. Vital Brazil). Na 12, uma unica inoculação fez com que 15 dias depois o indice agglutinante fosse de 1 : 200. Por falta de animaes, não foi feita a pesquisa do poder anti-toxico. Prova de immunidade, 19 dias depois, com 1 tubo de Fujimoto, pela bocca (test. III). Passados 4 dias, paralysia dos membros posteriores. Com 7 dias, morte. Nesse prazo, perda de 200 grs. de peso. A immunização foi defficiente. A prova foi muito severa, pois 1/2 tubo, verificação posterior, mata em 2 dias (test. IX), com lesões intestinaes dysentericas. Na n. 13, foram as dóses fraccionadas. Não havia poder anti-toxico. Não havia immunidade. Morte em 24 hs. Lesões intestinaes dysentericas.

As ultimas experiencias deste quadro n. 2 foram effectuadas em Butantan, com a amostra Fujimoto, com coelhos muito pequenos. O 14, o 15, o 16 e o 17 não resistiram á immunização. O 18 sobreviveu á inoculação de 1/2 tubo de cultura *per os*, da amostra homologa (test. IX). Sem symptomas, morte passado um mês. O 19 foi sangrado a 7 de junho. Poder agglutinante — não. Poder neutralizador — sim (prot. n. 4). Immunidade — sim. Passados 28 dias da prova, nova sangria exploradora (15-VII-25). Poder agglutinante — não. Poder neutralizador — sim (prot. 5). Immunidade — sim (prova — dóse mortal de Fujimoto sob a pelle (test. X).

Poder neutralizador do sôro dos coelhos vaccinados *per os*

Protocollo N. 1 (referente ás exps. 1. 2, 3 e 4 do Quadro N. 2).

COELHO		INOCULAÇÃO VENOSA		SYMPTOMAS	RESULTADO
N.	Peso	Data	Dóse		
1	1.580	21-IV-24	0,2 tox. + 0,2 sôro do coelho 4 (1 h. 37°, em mistura).	nenhum	Sobrevivencia
2	1.630	»	0,2 tox. + 0,2 sôro do coelho 3 (1 h. 37°, em mistura).	26-IV - paretico	+ 26/27-IV
3	1.580	»	0,2 tox. + 0,2 sôro do coelho 1 (1 h. 37°, em mistura).	27-IV - diarrhéa	+ 27-IV-24
4	1.710	»	0,2 tox. + 0,2 sôro do coelho 2 (1 h. 37°, em mistura).	27-IV - paretico 28-IV - diarrhéa	+ 1-V-24
5 Test.	1.790	»	0,2 de toxina = 1 d. m.m.	27-IV - tetraplegia, paralysia geral.	+ 27-IV

Protocollo N. 2 (referente ás exps. 8, 9, e 10 do Quadro N. 2).

Experiencia a 18-XII-23 — Os coelhos inoculados com a mistura de sôro (1 cc.) e toxina (0,1), incubada 1 h. a 37°, sobreviveram todos. O testemunha succumbiu a 21-XII-24. Na data dessa experiencia, a actividade da toxina era a de 0,1 como minima mortal. Se augmentamos a dóse de sôro, foi por ser mais vantajoso ao fito

da experiencia. Com mais razão seria excluida a participação de anticorpos na genesis da immunidade, se os coelhos succumbissem. Se os animaes sobrevivessem, como de facto sobreviveram, nenhuma duvida ficaria sobre o excesso de anticorpos circulantes, a garantir, consoante Ehrlich, a immunidade. A duvida persistiu pela falta de symptomas do testemunha, que succumbiu. A experiencia, no emtanto, não ficou invalidada, pelo conhecimento de que a dóse empregada correspondia, mesmo, á minima mortal, por provas frequentes de julgamento do valôr do sôro de cavallos immunizados contra dysenteria.

Protocollo N. 3 (referente á exp. 12 do Quadro N. 2).

COELHO		INOCULAÇÃO VENOSA		SYMPTOMAS	RESULTADO
N.	Peso	Data	Dóse		
1	1610	18-III-24	0,2 tox. + 0,2 sôro coelho N. 12 do Quadro 2. Mistura 1 h., 37°.	23-III - paresia muito ligeira dos membros anteriores. 24-III - bom.	Sobreviveu
2	1620	18-III-24	0,2 tox. + 0,2 sôro coelho N. 12 do Quadro 2. Incubação da mistura 1 h. a 37°.	23-III - ligeira paresia dos membros ants. 24-III - pela manhã - paresia accentuada; á tarde - tetraplegia.	+ 24/25-III
3 Test. I	1780	15-III-24	0,2 de toxina = 1 d.m.m.	18-III - paralytico, pela manhã.	+ 18-III-24
4 Test. II	1760	15-III-24	0,2 t. + 0,2 sôro do cav. 133.	17-III - paralytico, pela manhã.	+ 17/18-III-24

Testemunhavam a actividade da toxina, na dóse empregada, as experiencias effectuadas 3 dias antes, para julgamento do valor do sôro anti-dysenterico do cavallo 133, em curso de immunização. O sôro não dosou, pondo claro o poder da toxina.

Protocollo N. 4 (referente á exp. 20 do Quadro N. 2)

COELHO		INOCULAÇÃO VENOSA		SYMPTOMAS	RESULTADO
N.	Peso	Data	Dóse		
1	—	7-VI-25	0,2 sôro + 0,5 toxina (mistura 1 h., 37°).	10-VI - paralysia membros posts.	+ 11-VI-25
2	—	7-VI-25	0,2 sôro + 0,5 toxina (mistura 1 h., 37°).	Nenhum	Sobreviveu
3	—	7-VI-25	0,4 sôro + 0,5 toxina (mistura 1 h., 37°).	Nenhum	Sobreviveu
4	—	7-VI-25	0,4 sôro + 0,5 toxina (mistura 1 h., 37°).	Nenhum	Sobreviveu
5 Test. I	—	6-VI-25	0,5 de toxina, sendo 0,4 a dóse minima mortal.	8-VI-25 - par. m. post.	+ 9-VI-25
6 Test. II	—	6-VI-25	0,5 de toxina.	8-VI-25 - par. m. post.	+ 9-VI-25

NOTA — No momento da inoculação do coelho n. 2, a agulha sahiu da veia, indo, assim, parte da mistura, por via sub-cutanea. Então, propositalmente, repartimos para o n. 3, a inoculação, parte venosa, parte sub-dermica.

Protocollo N. 5 (referente á 2.ª sangria do coelho 20 do Quadro N. 2.)

COELHO		INOCULAÇÃO VENOSA		SYMPTOMAS	RESULTADO
N.	Peso	Data	Dóse		
1 Test. I	1050	16-VII-25	0,1 tox = 1 d.m.m.	18-VII - Par. m. posts. diarrhéa. 19-VII - Não foi observado.	+ 19/20-VII
2	970 gr.	16-VII-25	0,2 sôro + 0,1 tox. (1 h. 37º)	Nenhum	Sobrevivencia 25-VII - 25 (continuava bom)
3	970	16-VII-25	0,1 sôro + 0,1 tox. (1 h. 37º)	18-VII - Diarrhéa - 19-VII - Não foi observado. 20-VII - Bom.	Sobrevivencia 25-VII-25 (continuava bom)

Não se póde affirmar que a immunização *per os* confira immunidade local, dada a coincidencia referida.

A affirmativa de *Besredka*, de que ella se processava independente de anticorpo, é illação duma experiencia mal interpretada. Excluia a natureza geral da immunidade, por ausencia de agglutininas e de poder anti-infectuoso. Immunizou coelho. Tomou 1 cc. do sôro deste animal. Injectou em camondongo. Inocula dóse mortal de germe nos dois animaes. O coelho sobrevive, o camondongo morre. Póde indicar a morte deste camondongo que não havia anticorpos no sôro do coelho? Absolutamente, não. É possivel que 1 cc. deste sôro não contenha a quantidade necessaria de anticorpos para impedir a infecção.

É licito concluir-se por esta prova, que o vaccinado resistiu á infecção sem ser por interferencia de anticorpos? Não. É possivel que os anticorpos, contidos em toda a massa sanguinea, sejam em numero capaz de impedir a infecção, que os existentes em 1 cc. não conseguem.

Assim sendo, a ausencia de poder anti-infectuoso não implica na inexistencia de anticorpos, no sôro do coelho vaccinado.

Este sôro age mais como anti-toxico do que como anti-microbiano, e, a determinação do seu teor em anti-toxina, como meio de julgamento do seu valor, é mais segura pelo estabelecimento do seu poder neutralizador *in vitro* (incubação da mistura de sôro e toxina), do seu poder curativo, *in vivo* (toxina depois sôro), do que o seu poder anti-infectuoso, por possivel acção directa sobre o germe, por neutralização da quantidade indeterminada de toxina que delle sahir.

Não se póde estabelecer relação entre os tres poderes do sôro: neutralizador, curativo, anti-infectuoso. A escolher, para julgamento não só da existencia, mas do titulo de anti-toxina no sôro dos animaes vaccinados, as provas dos poderes neutralizador e curativo são preferiveis.

A mais simples, a do poder neutralizador, em que fica de lado a possivel causa de erro do gráo de avidez da toxina pelos tecidos, existente na prova de poder curativo, ainda é delicada.

Se, por exemplo, 0,2 de sôro neutralizarem 3 d.m.m. de toxina, 0,4 não neutralizam 6, e 0,1 póde neutralizar 2.

Quanto mais se augmentar, proporcionalmente, sôro e toxina, menos evidente se torna o poder neutralizador, até que se mostra nullo. Abaixando-se, occorre o facto inverso.

É preciso fixar a dóse de sôro que neutraliza 1 d.m.m. de toxina.

A determinação do numero de dóses minimas mortaes neutralizadas informa da riqueza do sôro em anti-toxina. A determinação da dóse menor de sôro que neutraliza uma minima mortal nos dá noticia desse poder. É compreensivel que com o mesmo sôro e a mesma toxina, os resultados variem, a ponto de um negar a existencia de anti-toxina (0,4 de sôro + 6 d.m.m. de toxina), e outro revelá-la (0,1 de sôro + 2 d.m.m. de toxina).

Se, aqui, a prova é delicada, quanto mais com o poder anti-infectuoso, em que se ignora a quantidade e a actividade da toxina, produzida pelos germes inoculados.

Não foi, pois, de admirar que tambem *Combiesco, Magheru* e *Calalb* (13) verificassem a existencia de anti-toxina, no sôro dos seus animaes entero-vaccinados.

Pelas experiencias, com germe vivo (quadro 1), nos capacitámos: *a*) da actividade de três amostras differentes de B. de Shiga; *b*) da sua acção electiva sobre o intestino, independendo da via de inoculação; *c*) da sua falta de desenvolvimento no sangue, por hemoculturas procedidas 1 2 e 1 h. após a inoculação venosa, por hemocultura 24 e 48 hs. após inoculação sub-cutanea, por culturas de sangue do coração, nas necropses dos animaes inoculados por differentes vias (todas as exps. em que é feita referencia á necropse); *d*) da sua acção segura, por inoculação digestiva.

Com esses dados partimos em busca da immunidade localizada ao orgão receptivo, por immunização directa, local, enterica, *per os*.

Das experiencias de immunização (germe morto) chegámos ás

CONCLUSÕES

1 — Consegue-se immunizar coelhos por via buccal com B. de Shiga, morto.

2 — Muitos animaes succumbem no decurso da vaccinação, ou no periodo intercallar de vaccinação e prova de immunidade.

3 — A julgar pela quêda sensivel de peso, manifestações dysentericas em alguns, lesões em outros, a morte se dá por intoxicação.

4 — A gravidade desta intoxicação depende do estado organico do animal (a coccidiose hepato-intestinal sendo um dos factores de menor resistencia); depende das dóses de germe morto; depende das amostras, havendo grandes differenças de toxicidade entre uma e outra.

5 — Para o encontro de amostra pouco toxica e muito immunizante devem se voltar as experiencias.

6 — Conseguimos immunizar animaes, com uma amostra menos toxica que outra, contra essa outra, mais activa e mais toxica, bem como contra as duas, em provas separadas.

7 — Temos obtido immunidade solida, com as amostras I.O.C.1 e Fujimoto, contra prova infectuosa por via venosa, sub-cutanea ou buccal.

8 — Sempre que ha immunidade, ha poder anti-toxico do sôro, com ausencia de poder agglutinante.

9 — Quando não ha poder anti-toxico não ha immunidade, nem mesmo contra a prova por via buccal. Não ha um augmento de resistencia local intestinal capaz de impedir a infecção. Nem immunidade local nem geral.

10 — A immunização por via buccal contra a dysenteria é um processo de immunização geral.

Immunisation *per os* contre le bacille de Shiga

CONTRIBUTION À L'ÉTUDE DU MÉCANISME DE L'IMMUNITÉ

PAR LE

DR. EDUARDO VAZ

SOMMAIRE

Après avoir rappelé les différents travaux publiés antérieurement sur l'immunité locale, l'A. expose la théorie moderne de *Besredka:* immunité générale par ses effets, mais d'origine locale due à l'immunisation de l'organe sensible.

Pour étudier le mécanisme intime de l'immunité locale, l'A. expose ensuite le résultat de ses recherches avec le B. de Shiga. Le choix de l'échantillon de B. de Shiga est très important et il est avant tout nécessaire d'établir les d.m.m. par différentes voies, buccale, souscutanée et endoveineuse avec les germes vivants; certains échantillons sont très toxiques et peu immunisants; il faut rechercher un type de faible pouvoir toxique et de pouvoir antigénique elevé.

Ayant rencontré un échantillon remplissant ces conditions, l'A. réalisa de nombreuses expériences d'immunisation par voie buccale chez le lapin: chaque animal recevait 3 ou 4 doses croissantes de germes morts, à 2 ou 3 jours d'intervalle; après un délai minimum de 2 semaines, la preuve d'immunité était faite par voie buccale, endoveineuse ou souscutanée avec des germes vivants soit du même échantillon, soit d'origine différente.

Chaque fois que cela fût possible, l'A. rechercha également le pouvoir neutralisant *in vitro,* ainsi que le pouvoir agglutinant du serum des animaux immunisés.

De ces expériences l'A. tire les conclusions suivantes:

1.º — On peut immuniser des lapins par voie buccale avec le B. de Shiga mort.

2.º — De nombreux animaux meurent pendant la vaccination, ou dans l'intervalle entre la vaccination et la preuve d'immunité.

3.º — À en juger par la perte sensible de poids, des manifestations dysentériques chez quelques uns, des lésions chez d'autres, la mort se produit par intoxication.

4.º — La gravité de cette intoxication dépend — *a)* de l'état organique de l'animal (la coccidiose hépato intestinale etant un des

facteurs de diminution de la résistance); *b*) des doses de germes morts; *c*) des échantillons de germes, de grandes différences existant entre chaque échantillon.

5.º — Seules des séries d'expériences permettent de trouver un échantillon peu toxique et de pouvoir immunisant élévé.

6.º — Il a été possible d'immuniser des animaux avec un échantillon moins toxique et actif qu'un autre contre ce dernier, ou contre les deux (preuves d'immunité separées).

7.º — Avec 2 échantillons (I.O.C.1 e Fujimoto), il a été obtenu une immunité solide contre l'épreuve d'infection par voie veineuse, souscutanée ou buccale.

8.º — Toutes les fois qu'il y a immunité, il y a pouvoir antitoxique du serum, mais absence de pouvoir agglutinant.

9.º — Quand'il n'y a pas de pouvoir anti-toxique, il n'y a pas d'immunité, même pas contre la preuve par voie buccale; il n'y a pas d'augmentation de la résistance locale intestinale, capable d'empêcher l'infection, il n'y a ni immunité locale, ni immunité génerale.

10.º — L'immunisation par voie buccale contre la dysentérie est une méthode d'immunisation générale.

Trabalhos citados

1 — *Shiga* — «Ueber die aktive Immunisierung *per os*» Saikingaku-Zassi, 1908, N.º 38 Apud Cent. f. Bakt., 1909, 1 Abt., Bd. 42, N.º 1 3, S. 119.

2 — *Wassermann und Citron* — «Ueber die Bildungastätten der Typhusimmunkorper» — Ein Beitrag zur Frage der lokalen Immunität der Gewebe. Zeit. f. Hyg., 1905, Bd. 50, S. 331.

3 — *Wassermann und Citron* — «Die lokale Immunität der Gewebe und ihre praktische Wichtigkeit» — Deut. Med. Woch., 1905, N.º 15. Apud Hyg. Rund., 1906, N.º 1, S. 193.

4 — *Loeffler* — «Ueber Immunisierung *per os*» — Gedenkschrift fur Rudolph V. Leuthold Bd. 1, S. 247. Apud Hyg. Rund. 1906, N.º 1, S. 193.

5 — *Dopter* — «Vaccination anti-dysentérique expérimentale par les voies digestives». Compt. Rend. Soc. Biol., 16. V. 1908. *Dopter in* «Les dysentéries».

6 — *Besredka* — «De l'immunité locale (suite et fin)» Bull. Inst. Past. 1924, t. 22, p. 265.

7 — *Bruckner* — «Ueber orale Immunisierung Versuche» Zeit. f. Im., Bd. 8, S. 139 — Apud Cent. f. Bakt., 1911, Bd. 49, S. 550.

8 — *Lippmann (H)* — «Ueber lokale Immunisierung der Eingangspforten Infektionen» — Med. Klin., 1910, N.º 38, S. 1477, Apud Cent. f. Bakt., 1911, Bd. 49, S. 549.

9 — *Besredka* — «Immunité générale par immunisation locale». Bul. Inst. Past., 1922, t. 20, Ns. 12 e 13, pp. 475 e 513.

10 — *Kanai* — «Dysentery immunisation in rabbits by the oral and subcutaneous methods». Brit. Med. Journ. Exp. Path., 1921, 2, p. 256. Apud Cent. f. Bakt. 1923, Bd. 74, n. 19/20, S. 459.

11 — *Vaz (E.)* — «Dysenteria e immunização anti-dysenterica por via buccal». Arch. Inst. Vital Brazil, 1924, t. 2, fasc. 2, p. 191.

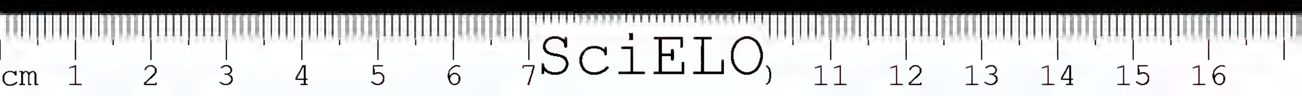
12 — *Vaz (E.)* — «Immunidade local». Rio — Typ. Rev. Trib., 1924.

13 — *Combiesco — Magheru et Calalb* — «Vaccination préventive contre la dysentérie par voie digestive, chez le lapin». Compt. Rend. Soc. Biol. 1923, 88, n.º 12, p. 904.

Trabalho recebido para publicação em 25. VII. 1925.




cm 1 2 3 4 5 6
SciELO
10 11 12 13 14 15 16


cm 1 2 3 4 5 6 7 SciELO 11 12 13 14 15 16


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15 16

